

THÈSE
DE
DOCTORAT ES SCIENCES PHYSIQUES
PRÉSENTÉE
A L'UNIVERSITÉ PARIS-VI

par

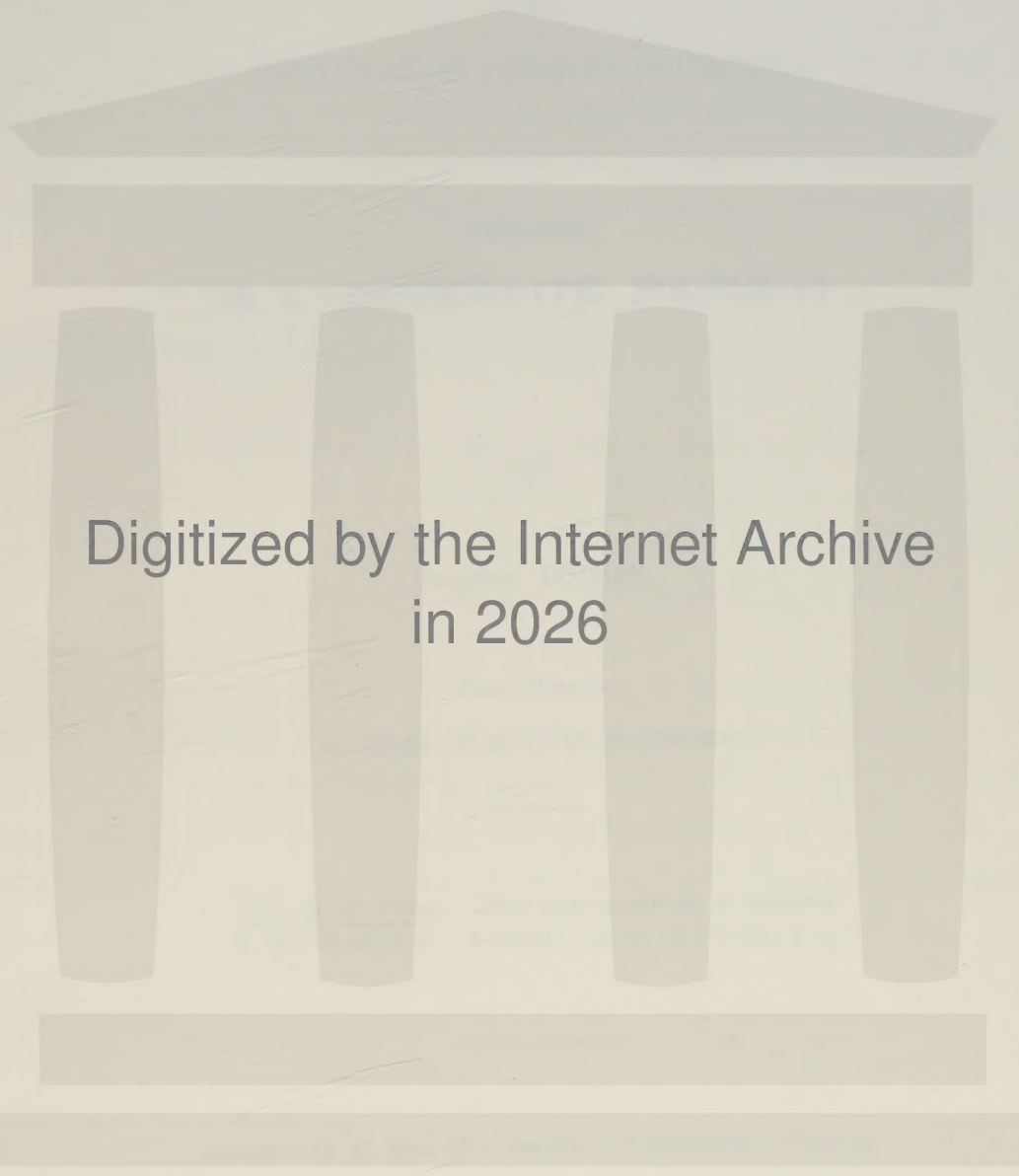
Jacques TOHIER

Pour Obtenir
LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES

Sujet de la Thèse : *Etude polarographique et chimique
de dérivés du type : $R-CO-CH_2 SH$ et $(R-CO-CH_2-S)_2$*

soutenue le 22 juin 1971 devant la Commission d'Examen

MM. P. SOUCHAY	Président
P. MAITTE	} Examineurs
R. BUVET	
M.B. FLEURY	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550410_0032

THÈSE

DE

DOCTORAT ES SCIENCES PHYSIQUES

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ PARIS-VI

par

Jacques TOHIER

Pour Obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES

Sujet de la Thèse : *Etude polarographique et chimique
de dérivés du type : $R-CO-CH_2 SH$ et $(R-CO-CH_2-S)_2$*

soutenue le 22 juin 1971 devant la Commission d'Examen

MM. P. SOUCHAY	Président
P. MAITTE	} Examineurs
R. BUVET	
M.B. FLEURY	

THÈSE

DE

DOCTORAT EN SCIENCES MATHÉMATIQUES

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ PARIS-VI

PAR

M. J. L. L.

LE 15 MARS 1970

LE 15 MARS 1970



THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES MATHÉMATIQUES

PRÉSENTÉE À L'UNIVERSITÉ PARIS-VI

UNIV. LEIDEN
BIBL.

Ce travail a été effectué sous la direction de Monsieur le Professeur SOUCHAY. Je tiens à lui exprimer ma respectueuse reconnaissance pour l'intérêt constant qu'il a porté à ce sujet. Je le remercie vivement de l'honneur qu'il me fait en présidant ce jury.

Je remercie Messieurs les Professeurs MAITTE et BUVET d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse.

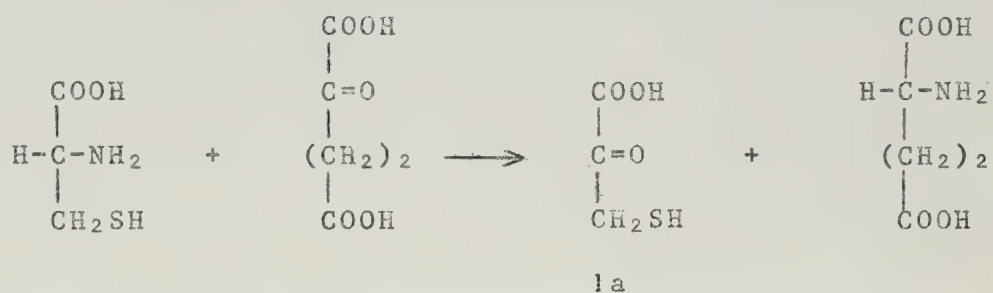
Que Monsieur FLEURY, Maître de Conférences, qui a constamment soutenu et dirigé ce travail trouve ici l'expression de ma profonde et sincère gratitude aussi bien pour ses directives et ses précieux conseils que pour le réconfort de ses encouragements amicaux.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur BASQUIN et à Madame VILLENEUVE, Directeur et Sous-Directrice honoraires de l'E.N.S.E.T., qui m'ont donné la possibilité de créer un laboratoire et d'y travailler dans de bonnes conditions, ainsi qu'à Messieurs THUREAU et TARDIVEAU, Directeur et Directeur adjoint qui m'ont permis de poursuivre mes activités.

PARTIE THEORIQUE

INTRODUCTION

Un rôle fondamental est attribué à l'acide β mercaptopyruvique 1a, dans la désulfuration enzymatique de la cystéine (1, 2 et 3), qui est le résultat de plusieurs étapes successives : transamination de la cystéine avec l'acide α cétooglutarique pour donner l'acide β mercaptopyruvique, lequel subirait lui-même une désulfuration enzymatique, la réduction du soufre apparu conduisant au sulfure d'hydrogène.



A l'état solide, une étude dans l'infra-rouge (4) a montré que les β mercaptopyruvates alcalins étaient essentiellement sous forme énolique.

Ce travail a consisté à rechercher si les solutions aqueuses de β mercaptopyruvate présentaient une tautomérie comparable à la tautomérie céto1-ènediol donnée par les solutions aqueuses d'hydroxypyruvate (5).

L'étude de cette tautomérie, effectuée par potentiométrie, spectrophotométrie ultra-violette et polarographie cathodique, constitue la première partie de cette thèse.

L'instabilité des solutions en milieu faiblement alcalin ($\text{pH} \approx 10$) a amené la mise en évidence d'une réaction de bicondensation du β mercaptopyruvate qui est décrite, dans la deuxième partie, après le comportement anodique, à l'électrode de mercure.

La complexité de ce dernier, en milieu alcalin ($\text{pH} \geq 12$) a nécessité l'étude du comportement de l'acide dithiodipyruvique $(\text{S}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{COOH})_2$, et de ses ions, en solution aqueuse.

La liaison S-S s'est avérée très labile, particulièrement en milieu alcalin, où elle est l'objet d'un clivage nucléophile. En dépit d'efforts soutenus, il a fallu renoncer à isoler des produits de transformation définis.

Cet échec a été compensé par l'isolement du produit de l'attaque nucléophile d'une molécule plus simple : l'acide dithiodiacétique $(\text{S}-\text{CH}_2-\text{COOH})_2$.

Le mécanisme de cette réaction, est décrit dans la troisième partie; il a fait l'objet d'un échange de vue avec le *Professeur James P. DANEHY, University of Notre Dame, Indiana*, spécialiste du clivage des liaisons S-S.

PREMIERE PARTIE

COMPORTEMENT DE L'ACIDE β MERCAPTOPYRUVIQUE

EN SOLUTION AQUEUSE

MISE EN EVIDENCE D'UNE TAUTOMERIE

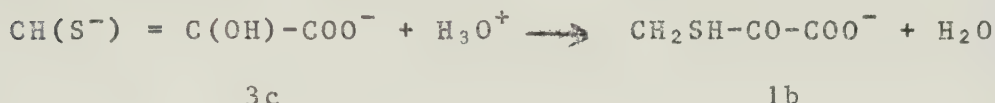
REDUCTION SUR ELECTRODE DE MERCURE

PREPARATION

Le β mercaptopyruvate d'ammonium, préparé pour la première fois par *PARROD* (6), a été obtenu, selon la méthode de *KUN* (7), à partir de l'acide β bromopyruvique et d'une solution concentrée d'ammoniaque saturée de sulfure d'hydrogène.

Le passage du sel d'ammonium à celui de sodium (ou à l'acide protoné) est réalisé à l'aide d'une résine échangeuse de cations.

Dans ce travail, l'acide β mercaptopyruvique est désigné par 1 ; sa forme hydratée sur le carbonyle par 2 ; sa forme énol par 3 ; les indices a, b et c sont affectés aux formes protonées, mono et biionisées. On écrira par exemple :



I - ETUDE SPECTROPHOTOMETRIQUE DANS L'ULTRA-VIOLET

Les formes 1_a, 1_b, 2_a et 2_b ne présentent que de faibles bandes d'absorption dans l'ultra-violet ; par contre, les solutions alcalines absorbent intensément : $\epsilon = 7000$ à 292 nm, à pH > 10.

Le graphe ϵ 292 nm = f(pH) obtenu avec des solutions aqueuses de β mercaptopyruvate de pH croissant met en évidence trois zones (figure 1) (8) :

pH < 7,0 : ϵ 292 nm est négligeable (≈ 100).

7 < pH < 10 : ϵ 292 nm augmente progressivement avec le pH.

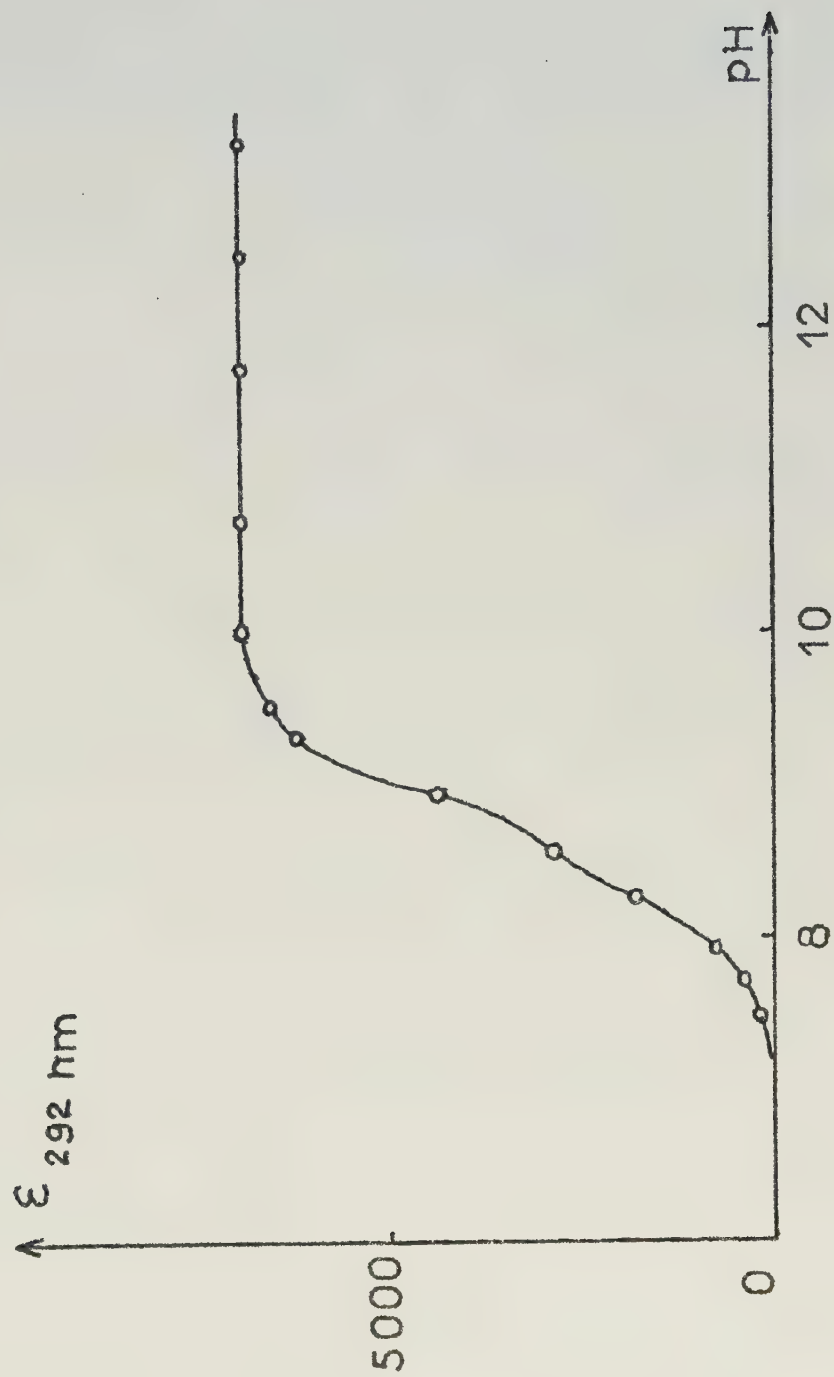


Fig.1.

Acide β mercaptopyruvique

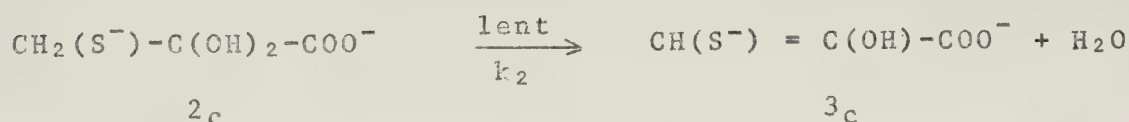
Pour une solution amenée à un pH défini, la valeur de ϵ 292 nm maximale n'est atteinte qu'au bout de quelques minutes.

pH > 10 : la valeur de ϵ 292 nm atteinte A L'EQUILIBRE est maximale (7000). Une valeur moitié moindre est obtenue pour pH 8,75.

L'étude polarographique (voir § III) montrant que le carbonyle est, à pH 7,0 essentiellement sous forme hydratée, il avait tout d'abord été envisagé que l'alcalinisation déplaçait INSTANTANEMENT l'équilibre :



tandis que 2_c se transformerait en 3_c AVEC UNE VITESSE MESURABLE :



On peut appliquer à 2_c le principe de l'état stationnaire :

$$\begin{aligned} \frac{d[2_c]}{dt} &= k_1 [2_b] [\text{OH}^-] - k_{-1} [2_c] [\text{H}_2\text{O}] - k_2 [2_c] = 0 \\ [2_c] &= \frac{k_1 [2_b] [\text{OH}^-]}{k_{-1} [\text{H}_2\text{O}] + k_2} \end{aligned}$$

Si ces hypothèses étaient exactes, on devrait trouver, pour la vitesse d'apparition de 3_c une expression de la forme :

$$\frac{d[3_c]}{dt} = k_2 [2_c] = \frac{k_1 k_2 [2_b] [\text{OH}^-]}{k_{-1} [\text{H}_2\text{O}] + k_2} = K [2_b] [\text{OH}^-]$$

Or, si l'ordre un est bien vérifié expérimentalement par rapport à 2_b , en milieu alcalin, il ne l'est pas par rapport aux ions hydroxydes. On trouve même que la vitesse d'apparition de 3_c est moins grande dans la soude diluée que dans des tampons phosphate ou carbonate de pH moins élevé ; en effet, les valeurs suivantes de k ont été obtenues en fonction du pH, à 25°C :

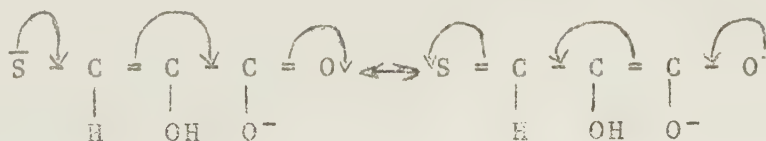
pH	7,5 < pH < 9,5	10,40	12,20	12,50
$k \text{ mn}^{-1}$	∞	0,46	0,48	0,60

TABLEAU I

En travaillant entre 10 et 40°C, on détermine :
 $\Delta E = 12,4 \text{ kcal mole}^{-1}$ et $A = 3,6 \cdot 10^8 \text{ mn}^{-1}$ à pH 12,2

En milieu neutre, l'absorption maximale est obtenue INSTANTANEMENT ; mais en observant soigneusement les spectres, on s'aperçoit que la longueur d'onde du maximum est décalée de 292 à 283 nm.

L'ensemble de ces résultats fait présumer l'existence d'une forme X, différente de 2_b et de 2_c , se formant INSTANTANEMENT en milieu neutre, et donnant 3_c , en milieu alcalin par une réaction d'ordre un ; cette forme X serait à l'origine du maximum à 283 nm, $\epsilon_0 = 1700$, déterminé par extrapolation, tandis que celle à 292 nm serait attribuable au chromophore $\text{CH}(\text{S}^-)=\text{C}(\text{OH})-\text{COO}^-$ 3_c qui présente une résonance intense due à l'addition des conjugaisons carboxylate-double liaison carbone-carbone et doublets libres 3p du soufre double liaison carbone-carbone.



A côté de ce maximum principal, il existe un maximum secondaire ($\epsilon = 4100$ à 230 nm) qui serait spécifique de $R-S^-$.

La structure ène-ol thiolate 3_c en solution aqueuse alcaline est d'ailleurs confirmée par l'obtention par acidification instantanée d'une forme labile ène-ol-thiol (3_a).

II - ACIDIFICATION D'UNE SOLUTION DE 3_c

L'acidification d'une solution aqueuse de 3_c montre que 3_c évolue de façon différente suivant les modalités de l'acidification, le produit final étant toujours le même.

1°) Le TITRAGE POTENTIOMETRIQUE en retour d'une solution aqueuse de 3_c , sous atmosphère d'azote, est confondu avec le titrage aller ; la vitesse de la transformation $3_c + H_3O^+ \longrightarrow 2_b$ est donc élevé à $25^\circ C$ par rapport à la vitesse expérimentale à laquelle on acidifie. Ainsi, le titrage d'une solution aqueuse d'acide β mercaptopyruvique $2.10^{-2} M$, de force ionique $\mu = 0,2$ met en évidence deux acidités : l'une de $pK_1 \approx 2,6$ due au carboxyle ; l'autre de pK_2 9,3 relative à l'équilibre apparent de tautomérie : $3_c + H_3O^+ \rightleftharpoons 2_b$ (I)

2°) Acidification instantanée à $pH < 2,5$

Une solution de β mercaptopyruvate 3_c de pH 13 est brusquement acidifiée par dilution dans une solution d'acide chlorhydrique de titre convenablement choisi ; on observe alors, du point de vue spectrophotométrique :

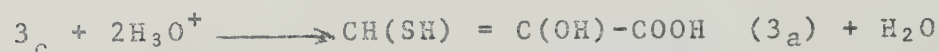
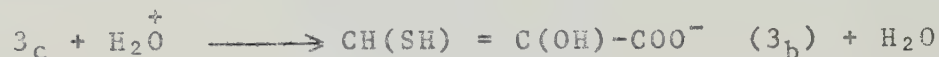
- un déplacement du maximum de 292 à 270 nm (comparable à celui qui résulterait de l'acidification d'une solution d'hydroxypyruvate) (5).

- une diminution rapide avec le temps de la valeur

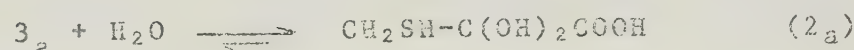
de l'absorption maximale à 270 nm.

Ces faits peuvent être interprétés en admettant l'existence de ceux étapes successives, lors de l'acidification.

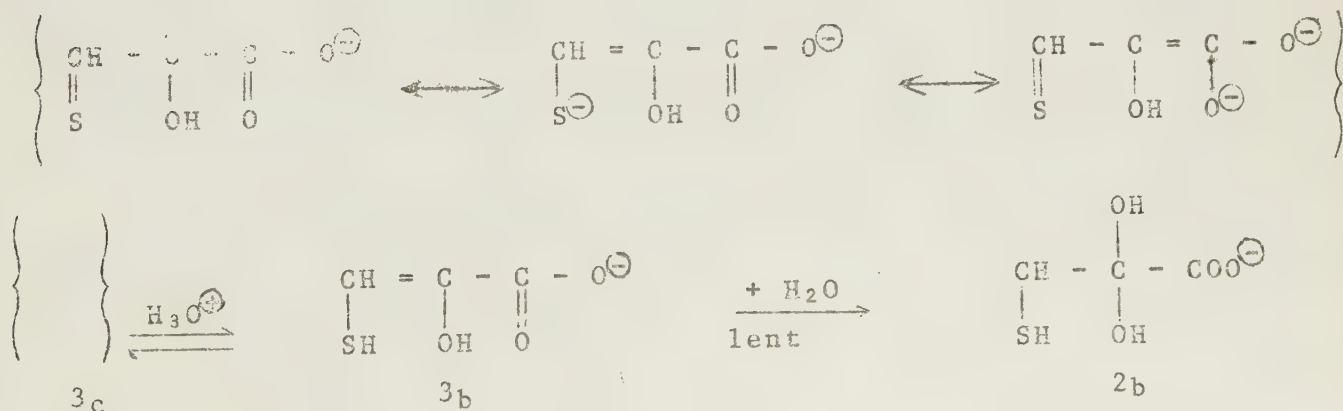
Dans la première, quasi-instantanée, l'acide éno1 (3_b) monoionisé ou protoné (3_a) est obtenu :



la seconde, plus lente, consiste en la tautomérie.



Cette succession de deux étapes peut s'expliquer de la façon suivante : la forme cétone hydratée 2_b , plus stable, se forme plus LENTEMENT, à partir de l'ion mésomère 3_c que la forme ène-ol thiol 3_a parce que l'état de transition entre 3_c et 2_b se trouve à un niveau énergétique plus ELEVE que celui qui existe entre 3_c et 3_b : la réaction qui conduit alors à 3_b de préférence à 2_b est dite CINETIQUEMENT contrôlée. Cependant, la forme 2_b étant THERMODYNAMIQUEMENT plus stable que la forme 3_b , c'est elle qui se forme inexorablement dans un deuxième temps :



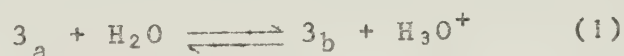
En suivant la diminution de ϵ 270 nm, on montre que la vitesse de la réaction est d'ordre un par rapport à 3_a ou 3_b : à 24°C et pour $\mu \approx 1$, on trouve les valeurs suivantes :

pH	0,3	0,95	1,16	1,50	1,60	1,75
$10^2 k \text{ mn}^{-1}$	4,2	6,6	9,0	13,2	14,0	16,0

TABLEAU II

d'où l'on tire : $\Delta \log k / \Delta \text{pH} = 0,41$; on constate également que la valeur trouvée pour la constante de vitesse dépend de μ : à pH 1,50 mais pour $\mu = 0,1$ on trouverait $10^2 k' = 7,5$; (voir partie expérimentale).

On peut, à partir de ces valeurs, calculer le pK_a de l'équilibre d'ionisation :



En effet, si c désigne la concentration globale des formes 3_a et 3_b ,

$$v = kc$$

La vitesse globale peut également être écrite sous forme d'une somme :

$$v = k_1 [3_a] + k_2 [3_b]$$

soit, si α désigne la proportion de 3_a dissociées :

$$v = [k_1 (1-\alpha) + k_2 \alpha] C \quad (2)$$

$$k = k_1 (1-\alpha) + k_2 \alpha$$

L'équilibre (1) donne :

$$K_a = \frac{\alpha c [H_3O^+]}{(1-\alpha)c}$$

d'où l'on tire :

$$\alpha = \frac{K_a}{K_a + [H_3O^+]} \quad (3)$$

Si l'on se place dans une zone où l'on puisse négliger $k_1(1-\alpha)$ devant $k_2\alpha$, il vient en remplaçant α par sa valeur dans (2) :

$$k = k_2 \frac{K_a}{K_a + [H_3O^+]} \quad (4)$$

Prenant alors plusieurs couples de valeurs associées pH-k, on peut calculer le pK_a de l'acide 3_a $CH(SH)=C(OH)-COOH$.

$$\begin{array}{l} \text{pH}' \longrightarrow [H_3O^+]'^{} \rightleftharpoons k' \\ \text{pH}'' \longrightarrow [H_3O^+]''^{} \rightleftharpoons k'' \end{array} \quad \frac{k'}{k''} = \frac{K_a + [H_3O^+]''^{}}{K_a + [H_3O^+]'^{}}$$

à 24°C, pour $\mu = 1$, on a trouvé $pK_a = 1,35$ (voir partie expérimentale).

3°) Acidification à pH > 2,5

La forme (2_b) est obtenue INSTANTANEMENT à 24°C, et il devient impossible de mesurer k. D'autre part, l'addition d'acétate à une solution acidifiée à pH 1, entraîne la disparition presque instantanée de l'absorption à 270 nm due à 3_a tandis que la réalcalinisation à pH > 10 ferait réapparaître 100 % de l'énol-thiolate 3_c , et ceci, quel que soit le

degré d'avancement, de la transformation $3_a \xrightarrow{\quad} 2_a$.

Il est de ce fait, exclu que la disparition du spectre à 270 nm soit consécutive à une dégradation de 3_a (décarboxylation par exemple). La réactivité vis à vis du chlorure de semicarbazonium confirme par ailleurs que le tautomère 1_b obtenu est bien un acide α cétonique (9).

III - COMPORTEMENT CATHODIQUE A L'ELECTRODE DE MERCURE

1°) Etude polarographique

Les polarogrammes de l'acide β mercaptopyruvique montrent l'existence d'une ou deux vagues de réduction suivant le pH (le comportement anodique sera envisagé dans la deuxième partie) :

$$\text{pH} < 2,5$$

L'intensité des vagues enregistrées est minime , ce qui s'explique par la très faible vitesse de déshydratation des formes hydratées des carbonyles 2_a et 2_b en solution.

$$2,5 < \text{pH} < 5,0$$

Le courant limite reste faible, la vitesse de déshydratation demeurant réduite et de nature cinétique, ainsi que l'indiquent le coefficient de température (environ 10 % par degré) et la valeur de l'exposant x dans $i = k h^x$ ($x = 0,1$).

La courbe $i = g(\text{pH})$ (figure 2) est analogue à celle décrite pour d'autres acides α cétoniques (10 et 11). La vitesse de recombinaison du proton sur le carboxylate étant élevée, la vague observée est celle de 1_a .

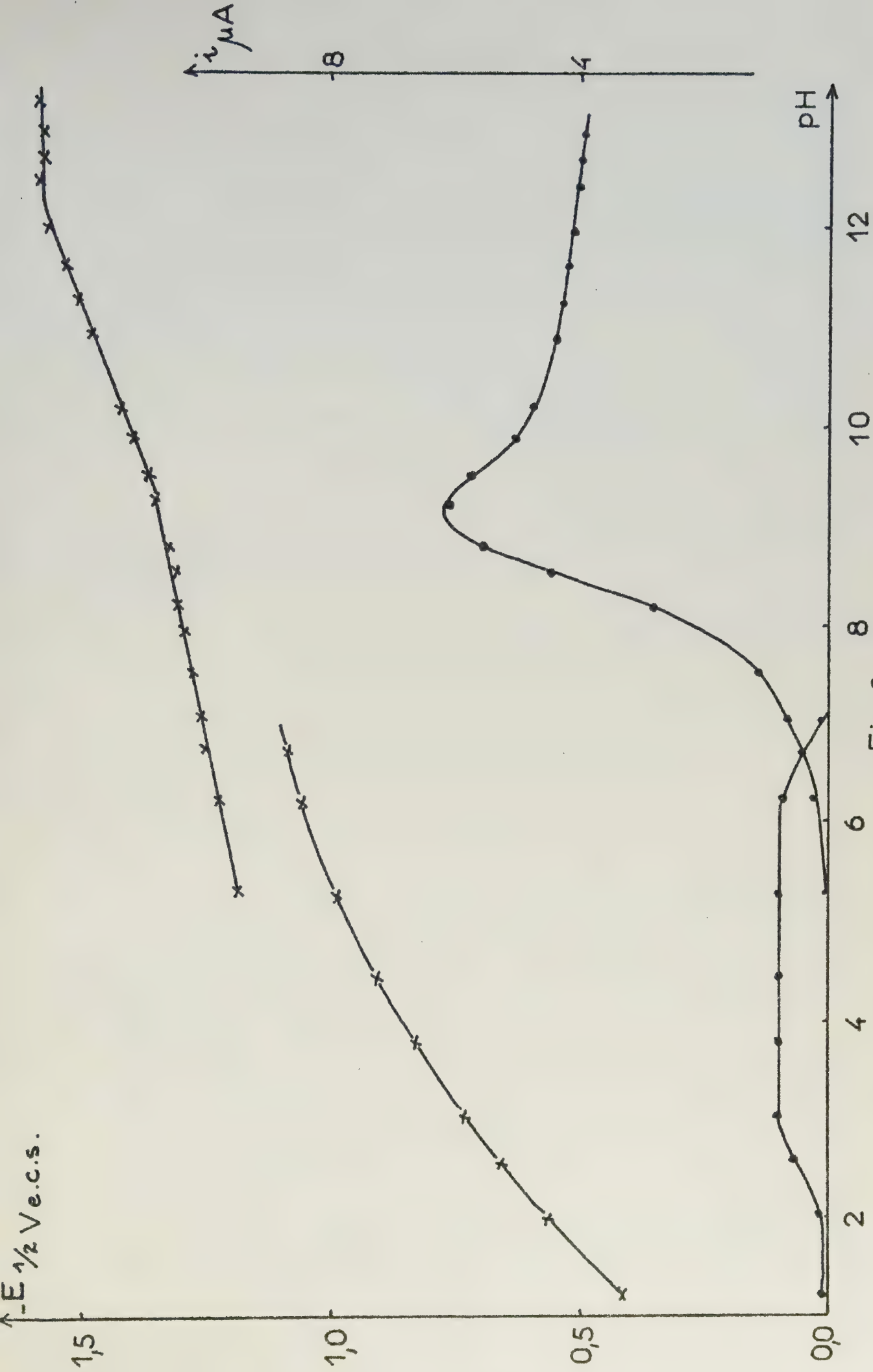


Fig.2.

Vagues cathodiques de l'acide β -mercaptopyruvique, $E_{1/2}$ (x) et de i (•) ; 1 électron $\pm 4 \mu A$ pour $C = 10^{-3} N$, $20^\circ C$.

$$5 < \text{pH} < 7$$

A partir de pH 5,0 la vague envisagée jusqu'ici, (1) sur la figure, décroît au profit d'une vague (2) correspondant à une forme ionisée (l_2) moins réductible ; la hauteur des deux vagues demeure constante.

$$\text{pH} > 7,0$$

La vague (2) croît rapidement et passe par une valeur maximale voisine de 1,5 électron un peu avant pH 9,0.

Pour pH > 9, elle décroît en effet et tend vers une limite atteinte à pH 11 ; la hauteur de la vague correspond alors sensiblement à 1 électron.

Pour interpréter ce comportement, des électrolyses à potentiels fixés ont été effectuées.

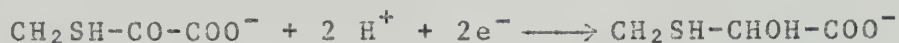
2°) Coulométrie à potentiel fixé

a) Milieu acide

La faible intensité du courant d'électrolyse, ($i_0 = 40 \text{ mA}$) à $-1,05 \text{ V}$ pour une solution 0,02 M en acide β mercaptopyruvique, 0,25 M en tampon acétate pH 3,6 confirme le caractère cinétique du courant polarographique. La quantité d'électricité engagée dans la réduction correspond à deux Faradays par mole d'acide β mercaptopyruvique. La solution réduite diluée dans NaOH 0,2 N absorbe à 230 nm : $\epsilon \approx 4000$. Il ne peut s'agir de sulfure qui, à pH $\leq 7,0$ aurait été chassé de la solution par le barbotage d'azote ; il s'agit donc d'un thiol.

En fin d'électrolyse, la solution précipite par l'acétate de plomb. L'analyse du produit recueilli montre qu'il

s'agit de mercaptolactate de plomb. Dans ce domaine de pH, la réduction concerne exclusivement le carbonyle :



b) Milieu alcalin

La quantité d'électricité engagée dans la réduction devient supérieure à 2 Faradays : elle est voisine de 3,3 Faradays pour des valeurs de pH comprises entre 10 et 12 ; elle redevient égale à 2 Faradays à pH > 13.

Une réaction nouvelle doit intervenir puisque la solution réduite contient du sulfure. On remarquera que, si cette réaction génératrice de sulfure intervenait à pH < 7,0 la solution ne pourrait contenir de sulfure d'hydrogène qui se serait dissipé puisqu'il est volatil. Néanmoins, même si une désulfuration se produit à pH < 7,0 elle ne doit pas être très importante, la formation d'acide β mercaptolactique étant pratiquement quantitative.

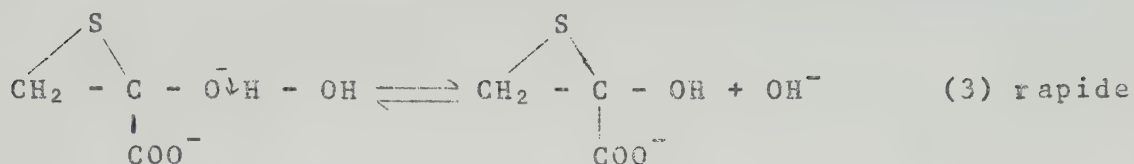
IV - DISCUSSION

Les résultats obtenus tant par polarographie que par électrolyse à potentiel fixé peuvent être interprétés en admettant que, quel que soit le pH, seules les formes cétoniques 1 sont réductibles à l'électrode à goutte. Trois zones de pH peuvent être discernées.

pH < 10,0

La réduction en acide-alcool (2 F) est tributaire de la déshydratation antécédente, dont la vitesse est lente ; l'intensité du courant, d'abord faible (pH < 7) est consécutive au déplacement de l'équilibre (II) dans le sens $\longrightarrow$

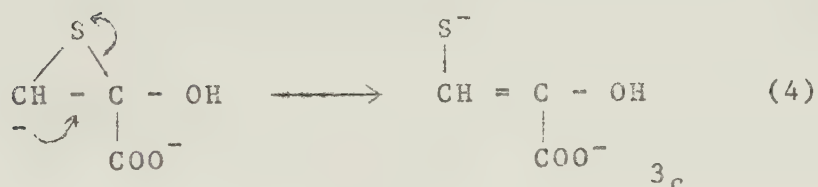
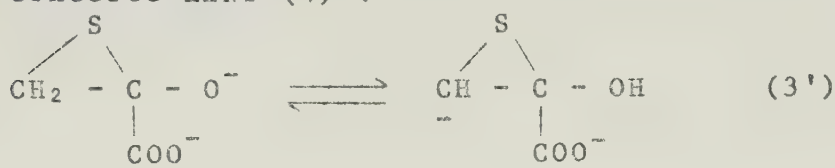
A pH < 10 la dernière étape serait une réaction acido-basique :



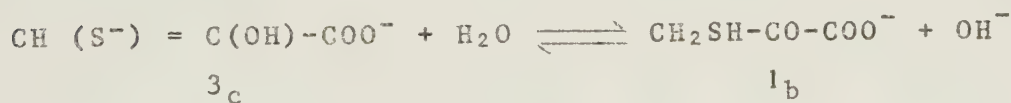
L'ensemble de la réaction est donc bien rapide, comme le veut l'évolution instantanée du spectre ultra-violet.

$$10 < \text{pH} < 12$$

L'étape (3) serait remplacée par une neutralisation intra-moléculaire rapide, suivie d'un transfert électronique concerté LENT (4) :

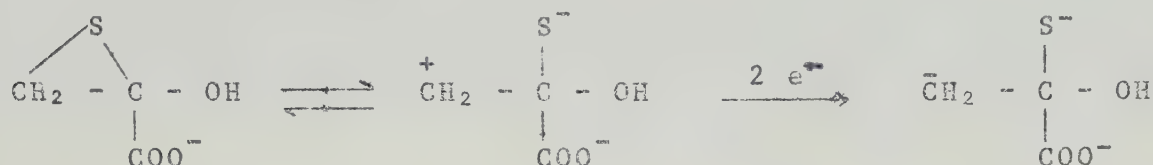


La forme stable en solution est 3_c , l'entité réductible demeurant 1_b , le courant polarographique est consécutif au déplacement dans le sens $\longrightarrow$ de l'équilibre :

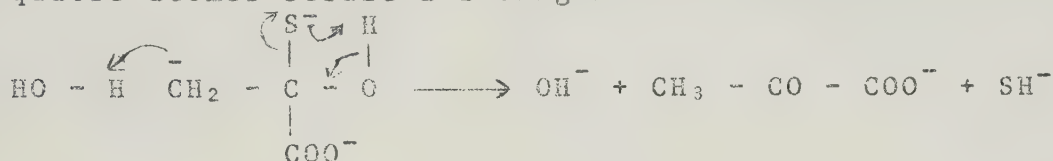


Il s'agit d'une tautomérie consécutive à une recombinaison de proton sur la fonction thiolate de pK_a 9,3, ce qui explique la pente de 60 mV/u.pH trouvée sur le graphe E 1/2 pH à pH > 9,3 (figure 2).

L'intervention de L'EPISULFIDE serait à l'origine de la réaction de réduction désulfurante observée par électrolyse en milieu alcalin ; la réduction serait consécutive à un équilibre d'ouverture du cycle :



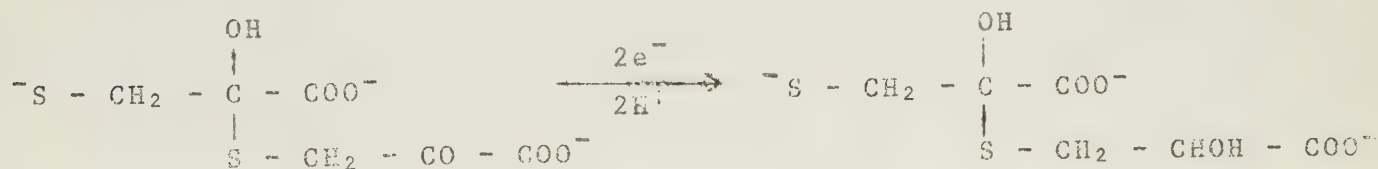
En solution aqueuse, le carbanion disparaît instantanément tandis qu'un transfert électronique concerté entre quatre atomes serait à l'origine de la désulfuration :



Au potentiel utilisé, le pyruvate obtenu est réductible en lactate (2 F) ; le bilan total de la réaction est donc, en définitive de 4 Faradays.

Cette réaction pour $10 < \text{pH} < 12$, interviendrait, à 25°C , dans la proportion de 66 % : on dose 0,66 mole de sulfure par mole de β mercaptopyruvate initiale.

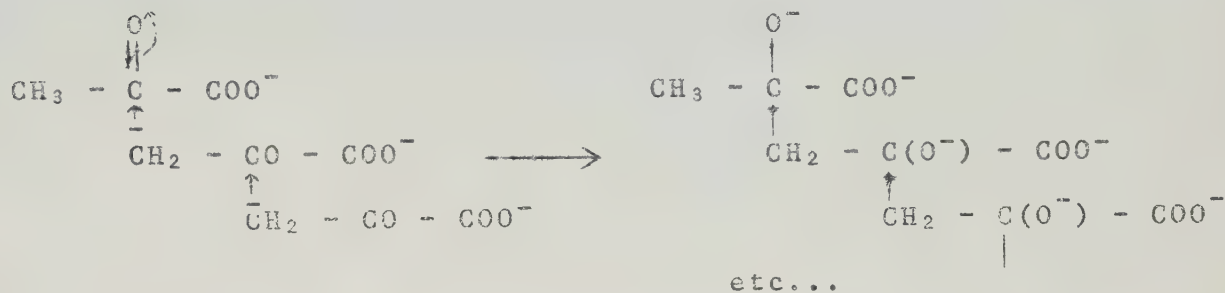
La réaction concurrente consisterait en la réduction d'un terme de bicondensation du β mercaptopyruvate, dans la zone de pH considéré (13 et partie suivante) :



pH > 12

La diminution de l'intensité du courant polarographique s'accompagne, à 25°C , d'une diminution du nombre de

Faradays, trouvé par coulométrie, alors que la quantité de sulfure obtenue reste CONSTANTE. Ce que l'on peut interpréter en admettant que la deuxième étape de la réaction principale ($\text{CH}_3\text{-CO-COO}^- + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow \text{CH}_3\text{-CHOH-COO}^-$) cesse d'intervenir. Il est possible, par exemple, que le carbanion obtenu se condense en parapyruvate non réductible (14).



Si, au lieu d'opérer à 25°C, la réduction est effectuée à une température supérieure, la réaction désulfurante devient exclusive : on dose en effet, une mole de sulfure par mole de β mercaptopyruvate initiale.

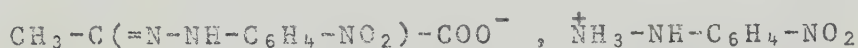
Après réduction par 2 F à pH 13,0, si l'on chasse le sulfure par barbotage d'azote prolongé en milieu acide, on précipite un sel de plomb de formule brute $\text{Pb C}_6\text{H}_6\text{O}_6$.

Etant donné la quantité d'électricité passée (2 F) et la présence quantitative de sulfure, il est exclu que ce soit du lactate qui correspondrait à 4 F, à moins que le sulfure ne provienne d'une réaction de désulfuration spontanée du β mercaptopyruvate à pH 13. Cette éventualité peu probable, l'attaque nucléophile du carbonyle génératrice d'épisulfide étant impossible dans la forme 3_c , est infirmée par l'expérience qui montre que les solutions alcalines de 3_c sont très stables à l'abri de l'air.

D'autre part, la solution réduite par 2 F à pH 13 (ou le sel de plomb isolé à partir d'elle) est inactive vis à vis de la semicarbazide, mais réactive avec la p.nitro-phénylhydrazine. L'analyse du dérivé obtenu correspond à la

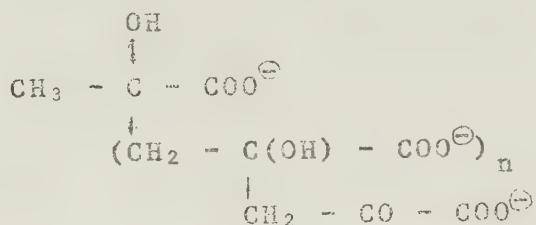
formule brute $C_{15}H_{16}O_6N_6$, impliquant la recombinaison de deux moles de p.nitrophénylhydrazine et d'une mole d'acide monomère.

Il est exclu que l'acide pyruvique puisse donner une osazone, par contre, il peut réagir pour former le sel de phénylhydrazonium de la monophénylhydrazone :



Des sels semblables ont en effet été obtenus par action de dérivés $R-NH-NH_2$ sur les acides α cétoniques : sels de phénylhydrazonium des phénylhydrazones des acides hydroxypyruvique (5 et 15), dihydroxyfumarique (8 et 16), et oxaloacétique (9) ; sel de semicarbazonium de l'acide hydroxypyruvique (17).

En définitive, seule la formation d'un polymère du pyruvate paraît compatible avec l'ensemble de ces propriétés



V - CONCLUSION

Le tableau suivant rassemble les différentes formes envisagées pour expliquer l'ensemble des phénomènes observés et analysés par potentiométrie, spectrophotométrie U.V. ; polarographie et coulométrie.

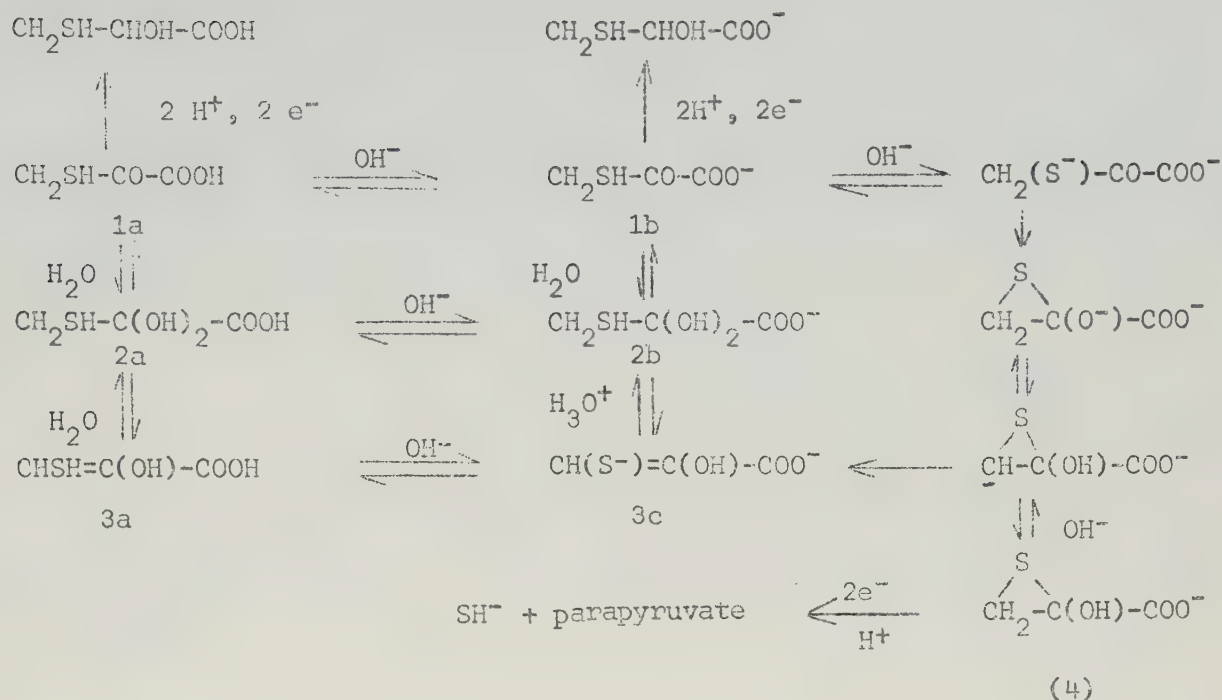
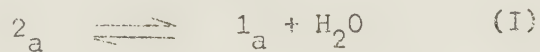
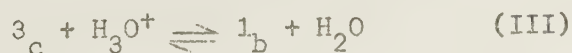


TABLEAU III

A $\text{pH} < 7$ le β mercaptopyruvate se comporte comme tout acide α cétonique (10 et 11) : on obtient par réduction (2 F) l'acide-alcool correspondant, le β mercaptolactate, l'intensité du courant polarographique étant tributaire de la vitesse des réactions ANTECEDENTES de déshydratation à l'électrode :



A $\text{pH} > 10$ la forme stable en solution est 3c , le courant polarographique est conditionné par le déplacement dans le sens $\longrightarrow$ de l'équilibre :



ce qui explique la pente de 60 mV/ μ .pH trouvée sur le graphe $E_{1/2}$ pH en milieu alcalin.

Des électrolyses à potentiel fixé mettent en évidence l'intervention d'un second mécanisme de réduction qui serait consécutif à la formation de l'épisulfide 4, dont l'existence permet de justifier les résultats de l'étude cinétique effectuée par spectrophotométrie U.V.

Selon que le pH est inférieur ou supérieur à 12, le carbonyle engendré à la suite d'un transfert électronique concerté désulfurant est réductible ou non : dans le premier cas (4 F), on obtient du lactate et du sulfure ; dans le second cas (2 F), probablement du parapyruvate et du sulfure.

Les produits de réduction en tampon acétique (β mercaptolactate) et en milieu sodique dilué (parapyruvate) ont été isolés sous forme de sels de plomb. Vers pH 10, on précipiterait un mélange de lactate et de parapyruvate.

DEUXIEME PARTIE

COMPORTEMENT DE L'ACIDE β MERCAPTOPYRUVIQUE
EN SOLUTION AQUEUSE

OXYDATION SUR ELECTRODE DE MERCURE
MISE EN EVIDENCE D'UNE BICONDENSATION

I - COMPORTEMENT ANODIQUE DE L'ACIDE β MERCAPTOPYRUVIQUE

1°) Etude polarographique

A $\text{pH} < 7$ ou $\text{pH} > 12$ l'acide β mercaptopyruvique donne une vague anodique stable ; à pH compris entre 7 et 12, on observe deux vagues qui évoluent lentement à la température ordinaire, jusqu'à la disparition de la moins négative (B) ; néanmoins, quel que soit le pH , on dispose d'un temps suffisant pour étudier les vagues anodiques initiales (figure 3).

Sur la figure 3, les E 1/2 de la vague la plus négative (A_1 puis A_2) sont représentés par deux segments de droite de pente $z_1=54\text{mV/upH}$ jusqu'à $\text{pH } 9,3$ et $z_2 \approx 0$ à $\text{pH} > 9,3$.

La relation entre l'intensité des vagues A_1 et A_2 et la concentration du dépolarisant est linéaire pour $C \leq 2.10^{-4}\text{M}$; une intensité maximale, dépendant du pH , est obtenue pour $C = 2.10^{-3}\text{M}$.

La même zone de concentration, dans laquelle on peut assimiler i_m à i_d , se retrouve du point de vue de la relation $i=k h^x$: $x \approx 0,5$ pour $C \leq 2.10^{-4}\text{M}$; $x \approx 1$ pour $C > 10^{-3}\text{M}$.

Pour $C < 2.10^{-4}\text{M}$, les courbes $\lg \left(\frac{i_d - i}{i} \right) = f(V)$ sont des droites (figure 4) coupant l'axe des potentiels aux valeurs attendues pour les E 1/2. Les pentes observées, exprimées en mV, sont rassemblées en fonction du pH dans le tableau suivant :

pH	4,9	5,9	6,9	8,4	10	10,9
mV	80	55	53	61	50	51

TABLEAU IV



Fig.3.

Vagues anodiques de l'acide β mercaptopyruvique. ($4 \cdot 10^{-4}$ M ; 20°C).

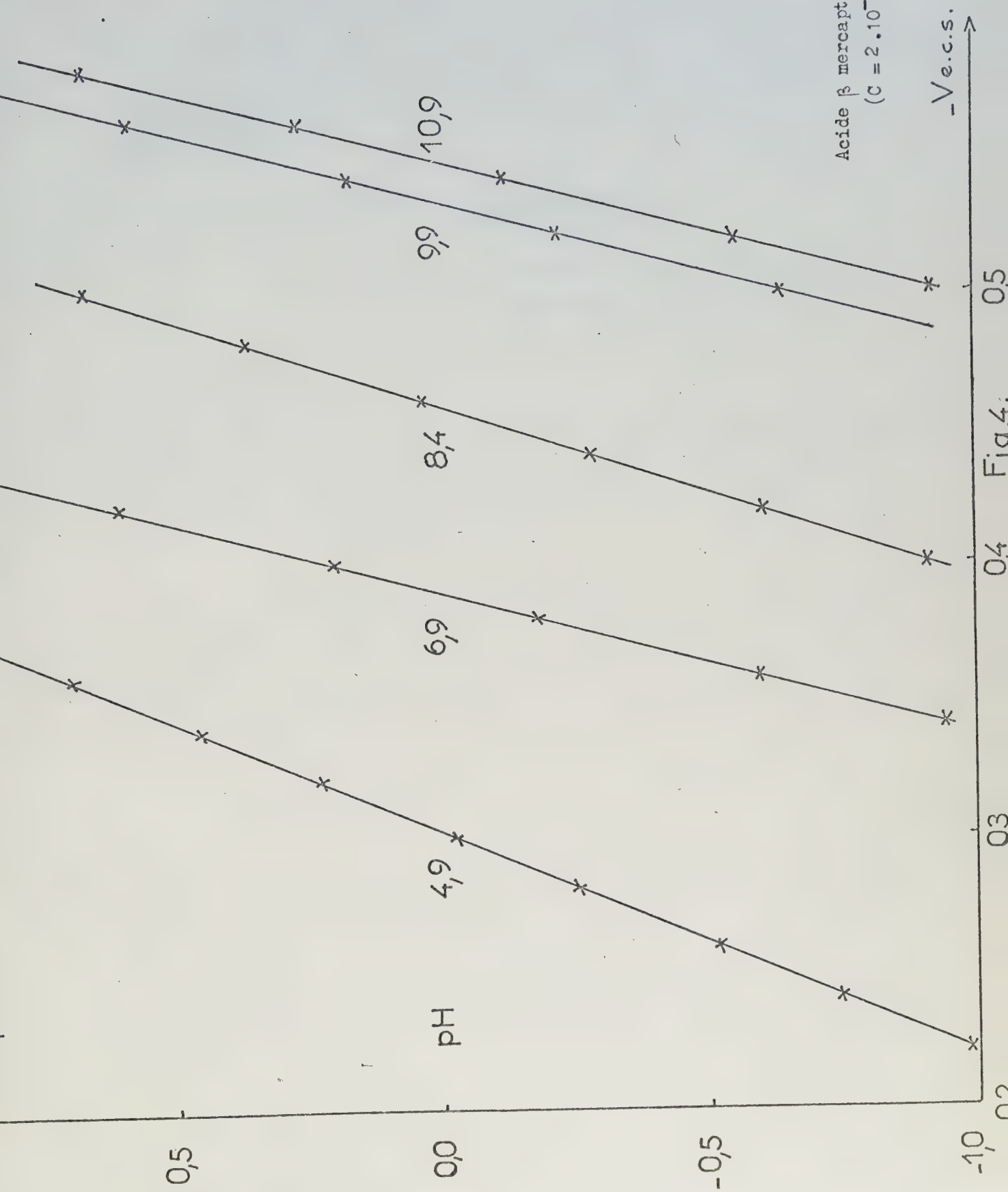


Fig 4:

Les courbes électrocapillaires tracées, à différents pH mettent en évidence l'adsorption des produits formés (voir figure 5). Afin de préciser la nature des réactions anodiques, des électrolyses à potentiel fixé ont été réalisées à différents pH.

2°) Coulométrie à potentiel fixé

Selon que le pH est inférieur ou supérieur à 12, deux processus distincts sont susceptibles d'intervenir.

a) pH < 12

Si l'électrolyse est effectuée au niveau du potentiel de A₁ (pH < 9,3) ou de A₂ (9,3 < pH < 12), la quantité d'électricité engagée dans l'oxydation est de 1 Faraday par mole de β mercaptopyruvate.

L'évolution des polarogrammes enregistrés à partir de solutions en cours d'oxydation est compatible avec l'existence d'un SYSTEME REVERSIBLE, puisque la vague initialement anodique devient progressivement cathodique, sans variation de E_{1/2}, (figure 6).

Remarque

Pour 7 < pH < 12 on observe que la quantité d'électricité passée est inférieure à 1 F, à la température ambiante. Ceci s'explique en admettant l'intervention d'une réaction de condensation du mercaptopyruvate qui sera étudiée par ailleurs. En refroidissant à 3°C, cette réaction est suffisamment ralentie pour qu'il passe à nouveau une quantité d'électricité voisine de 1 F.

b) pH > 12

L'électrolyse met en jeu deux Faradays par mole de

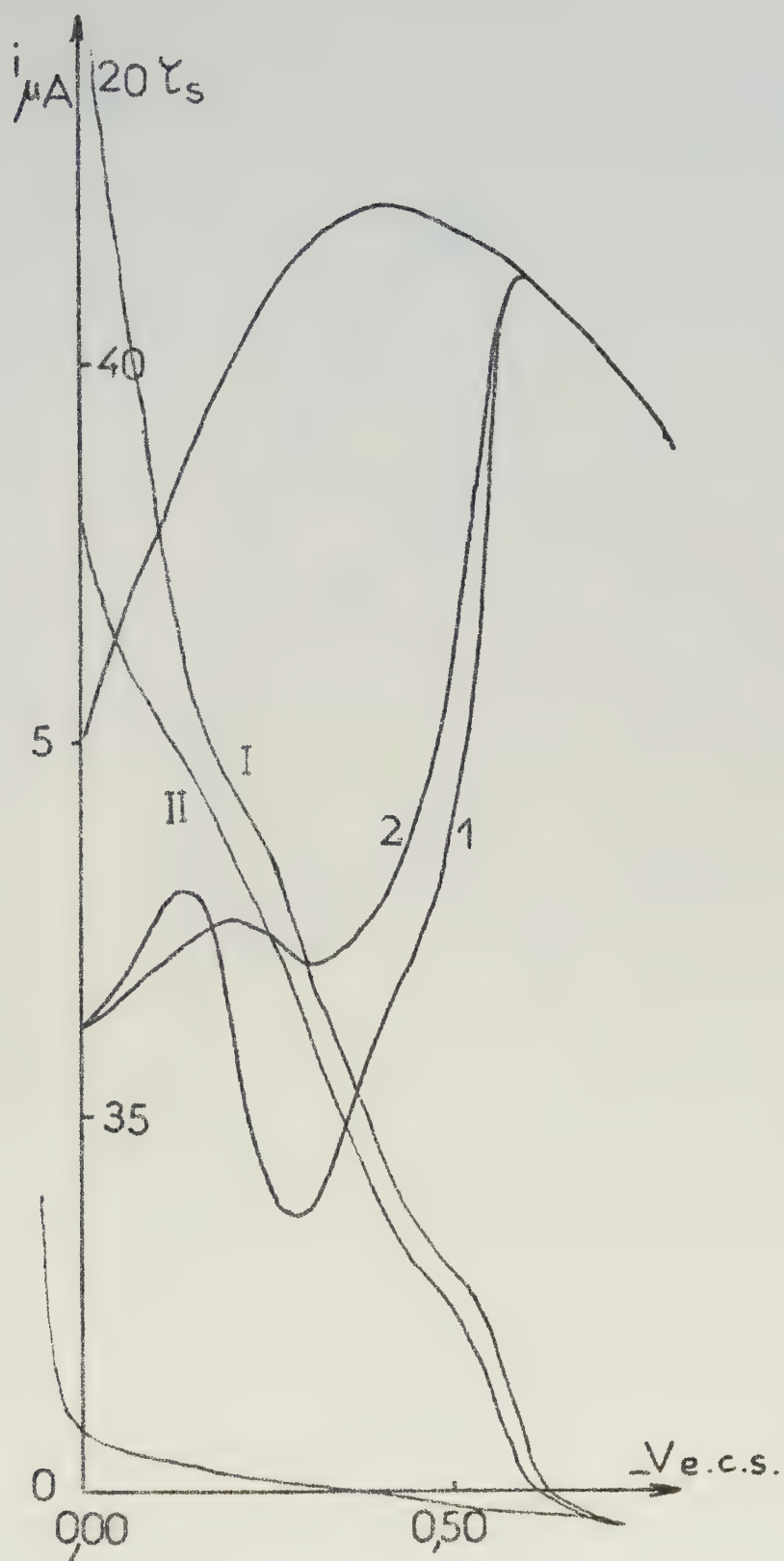


Fig.5.

Vagues anodiques du β mercaptopyruvate I ($C = 10^{-3} M$) et II ($C = 4 \cdot 10^{-4}$) en tampon carbonate pH 10,5, courbes électrocapillaires correspondantes 1 et 2.

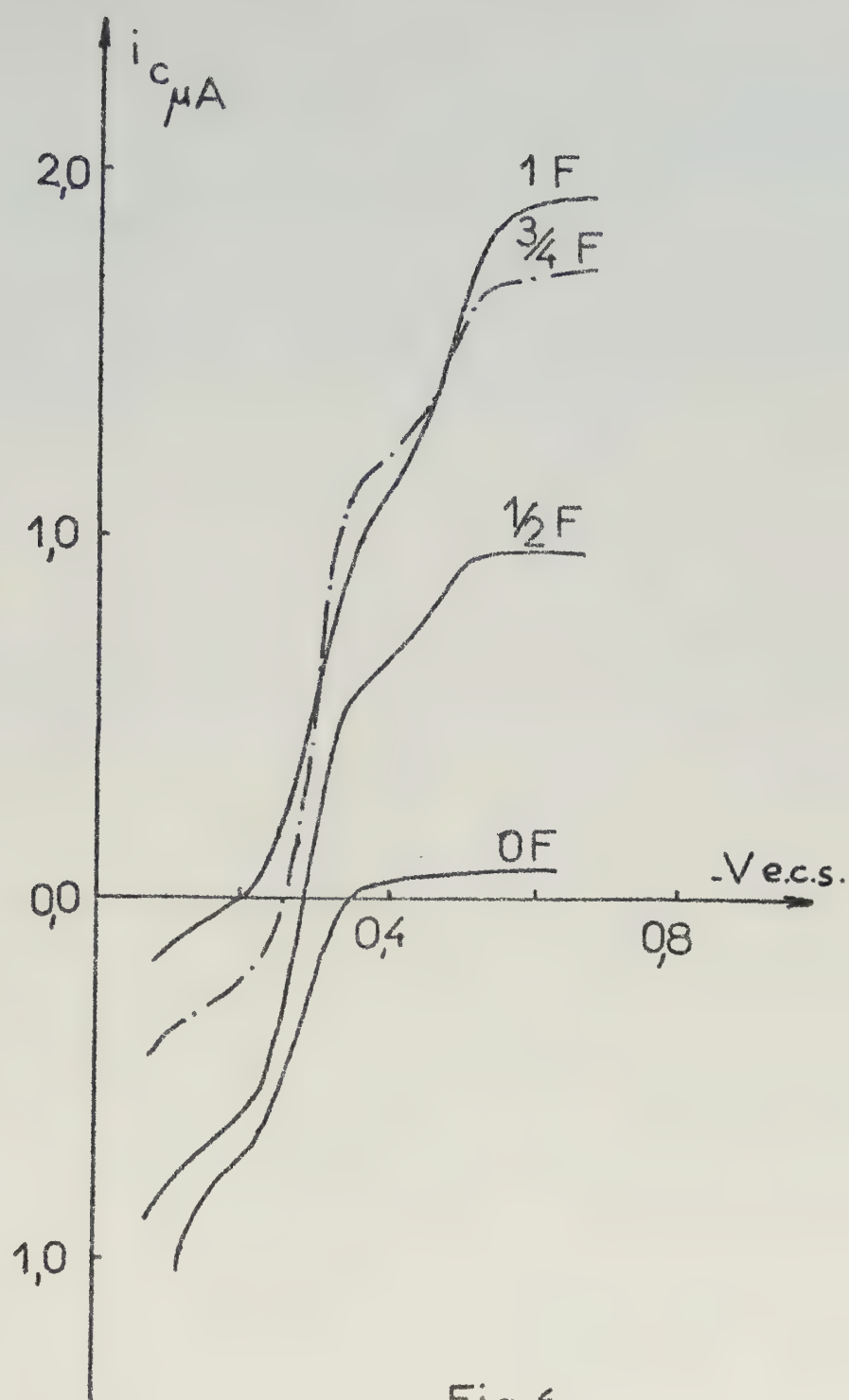


Fig.6.

Evolution du polarogramme, $C = 4 \cdot 10^{-4}$ M, au cours d'une électrolyse anodique sur nappe de mercure $E = + 0,05$ V à $20^\circ C$, en tampon acétique pH 4,9 ;
 $[\beta \text{ mercaptopyruvate }] = 0,02$ M.

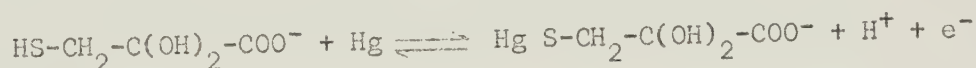
β mercaptopyruvate, mais cette fois-ci l'étude des polarogrammes faits à partir des solutions en cours d'oxydation montre que le processus est IRREVERSIBLE.

On constate d'autre part, que l'oxydation s'accompagne de l'apparition d'une mole de CO_2 par mole de β mercaptopyruvate.

3°) Discussion

a) $\text{pH} < 12$

Les électrolyses à potentiel fixé montrent que l'oxydation du β mercaptopyruvate à $\text{pH} < 12$ est un processus UNIELECTRONIQUE REVERSIBLE. Ce résultat, confirmé par l'analyse des transformées logarithmiques, calculées pour les vagues A_1 et A_2 (pentes voisines de 60 mV), est compatible avec la formation à l'électrode à goutte d'un mercaptide de Hg (I), comparable à celui décrit pour la cystéine, le mercaptobenzothiazole et pour les acides thioglycolique et β mercaptopropionique (18a, 18 b, 18 c et 19).

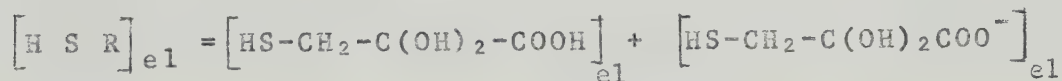


L'application de la relation de NERNST à cette équation permet de justifier l'allure du graphe $E \text{ 1/2 -pH}$ déjà décrit (figure 3). En effet en utilisant les molarités et non les activités, du fait de la dilution des solutions, il vient :

$$E = E_0 + 2,3 \frac{RT}{F} \lg \frac{[\text{Hg SR}]_{\text{el.}} [\text{H}^+]}{[\text{H S R}]_{\text{cl}}} \quad (1)$$

La validité de l'application de cette équation est confirmée à postériori par la coïncidence des conclusions que l'on en déduit avec les résultats expérimentaux.

En posant à l'électrode :



Le courant anodique i est proportionnel à $[\text{Hg S R}]_{\text{el}}$

$$i = k [\text{Hg S R}]_{\text{el}} \quad (2)$$

ainsi qu'à la somme des gradients de molarité existant entre les différentes formes de l'acide β mercaptopyruvique.

$$i = k' \left(\underset{2a}{[\text{H S R}]} - [\text{H S R}]_{\text{el}} + \underset{2b}{[\text{S R}]} - [\text{S R}]_{\text{el}} \right)$$

Le courant maximal enregistré étant égal à :

$$i_m = k' \left(\underset{2a}{[\text{H S R}]} + \underset{2b}{[\text{S R}]} \right)$$

On en tire :

$$[\text{H S R}]_{\text{el}} + [\text{S R}]_{\text{el}} = \frac{i_m - i}{k'}$$

En appelant K la constante d'ionisation de H S R , on obtient $[\text{H S R}]_{\text{el}}$:

$$[\text{H S R}]_{\text{el}} = \frac{i_m - i}{k'} \cdot \frac{1}{1 + \frac{K}{[\text{H}^+]}} \quad (3)$$

Par substitution de (2) et (3) dans (1), l'équation de NERNST s'écrit :

$$E = E_0 + 2,3 \frac{RT}{F} \lg \frac{k'}{k} \cdot \frac{i}{i_m - i} [H^+] \left(1 + \frac{K}{[H^+]} \right)$$

En fonction du pH, le terme prédominant dans le facteur $\left(1 + \frac{K}{[H^+]} \right)$ est : 1 pour $pH < pK$; $\frac{K}{[H^+]}$ pour $pH > pK$. Ainsi, les potentiels de demi-vague ont des expressions différentes suivant le pH ; à 25°C :

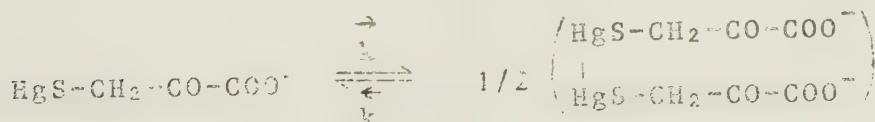
$$E_{1/2} = E_0 + 0,06 \lg \frac{k'}{k} + 0,06 \text{ pH pour la vague } A_1$$

$$E_{1/2} = E_0 + 0,06 \lg \frac{k'}{k} - 0,06 \text{ pK pour la vague } A_2$$

On constate effectivement que la pente de (A₁) est très voisine de 60 mV/u.pH, que celle de (A₂) est pratiquement nulle et que l'abscisse du point d'intersection de (A₁) et de (A₂) est voisine de $pK_2 = 9,3$ (figure 3).

Evolution ultérieure du mercaptide de Hg (I)

L'analyse du mercaptide formé au cours d'électrolyses à potentiel fixé donne la formule brute $(Hg C_3H_5O_4S)_n$. Il est généralement admis que, aux concentrations utilisées dans ce travail, le mercaptide de Hg (I) est instable ; on peut envisager la dimérisation :



L'intervention de la dimérisation est perceptible en voltamétrie cyclique : en opérant par balayage rapide ($4Vs^{-1}$) aller et retour, on observe un phénomène REVERSIBLE. Par contre, si la vitesse de balayage est moins élevée ($1 V s^{-1}$) l'oxydation devient IRREVERSIBLE. (figure 7).

Ces résultats semblent pouvoir être interprétés

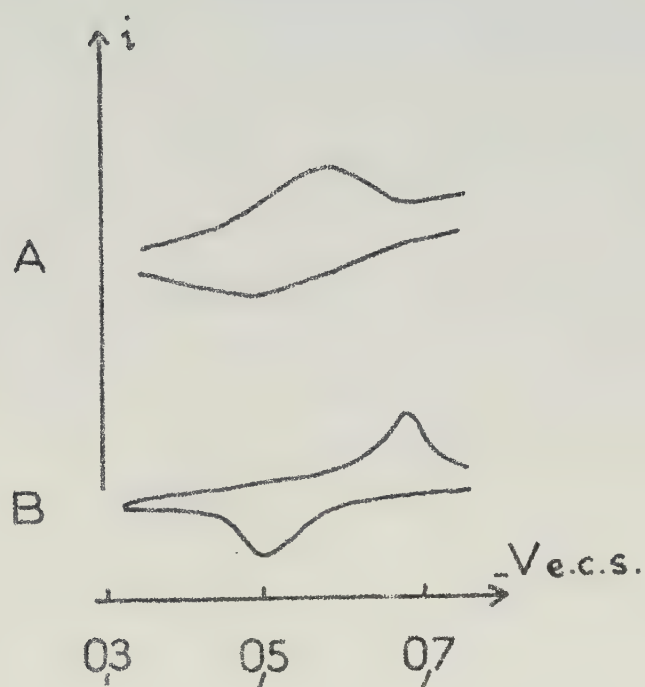


Fig. 7.

Oscillogramme du β mercaptopyruvate, $C = 4 \cdot 10^{-4}$ M, en tampon carbonate
pH 10,5 : balayage triangulaire symétrique ; aller = oxydation.

A : 4 V s^{-1} ; B : 1 V s^{-1} .

ainsi : au cours du balayage rapide, la transformation dans le sens monomère $\xrightarrow{k}$ dimère n'a pas le temps d'intervenir à la surface de l'électrode, si bien que le mercaptide de Hg (I) demeure en équilibre avec le thiol initial :



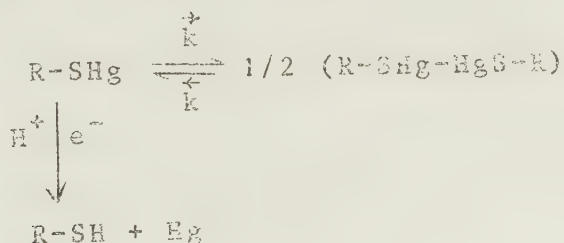
Pour une vitesse de balayage moins rapide, la transformation :



a le temps de s'effectuer dans le sens monomère $\xrightarrow{k}$ dimère, si bien que, lors du balayage retour (réduction), la transformation monomère $\xleftarrow{k}$ dimère retarde l'établissement de l'équilibre électrochimique. Ces résultats impliquent que l'on ait : $k > k$.

La constante k ne peut d'ailleurs être considérée comme petite que pour une vitesse de balayage de 1 V s^{-1} , puisqu'il a déjà été signalé que l'évolution des polarogrammes enregistrés au cours d'une électrolyse anodique correspondait à un processus REVERSIBLE (figure 6).

Ce résultat implique que, à l'électrode à goutte, avec une vitesse de balayage de $0,007 \text{ V s}^{-1}$, la transformation monomère $\xleftarrow{k}$ dimère antécédente à la réduction, ne retarde plus l'établissement de l'équilibre électrochimique.



A ce mécanisme de réduction C.E. doit correspondre

une vague cinétique du premier type : dans le cas présent, $K \lambda^{1/2}$ serait très grand et i_m pourrait être confondu avec i_d .

$$\lambda = (\vec{k} + \overleftarrow{k})\theta \quad \text{et} \quad K = \frac{\vec{k}}{\overleftarrow{k}}$$

θ : temps de vie de la goutte.

La vague d'oxydation devrait, quand à elle, être une vague cinétique du deuxième type, (processus E.C.). KOUTECKY a résolu mathématiquement le problème (20). Ce type de processus serait sans influence sur i_m , mais se traduirait seulement par un déplacement global de la vague puisqu'on observe expérimentalement une droite pour le graphe $\lg \frac{i_m - i}{i}$, E.

b) pH > 12

Le mécanisme de l'oxydation est totalement différent : il n'y a plus formation d'un mercaptide. Bien que le graphe de la fonction $\lg i = f(t)$ indique (21) que le processus est, DANS UN PREMIER TEMPS, à 1 F, la quantité d'électricité engagée dans l'oxydation atteint finalement 2 F (figure 8).

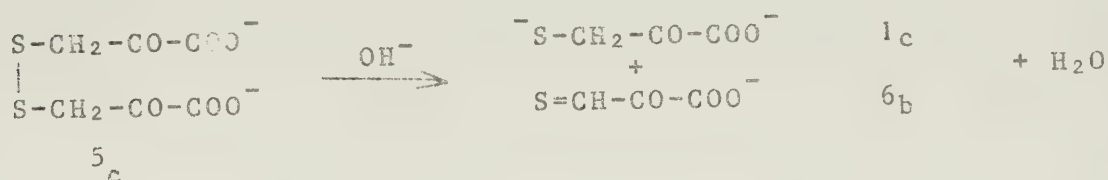
Après passage de 2 F, (E = -0,3 V) en milieu soude diluée (0,1 ou 0,2 N), on constate que la solution oxydée contient une mole de carbonate par mole de β mercaptopyruvate initiale (3c). L'effacement complet de la bande à 292 nm et des vagues anodique et cathodique de 3c (voir première partie) montre que l'oxydation est bien totale.

Pour élucider ce nouveau mécanisme, on peut s'appuyer sur une constatation fondamentale : si l'on oxyde sur nappe de mercure à -0,3 V, dans NaOH 0,2 N, 0,5 mole de dithiodipyrivate Ξ_b (obtenu par oxydation par l'iode de 2b), on dose encore une mole de carbonate après passage de 1 F, seulement.

Rapprochant ce résultat du fait que, en portant $\lg i$ en fonction de t , on trouve que le processus d'oxydation est INITIALEMENT à $1F$, (figure 8) il est logique d'admettre que le dithiodipyrivate 5_c constitue le premier terme de l'oxydation de 3_c .

Cette interprétation est confirmée par l'analogie des polarogrammes obtenus en cours d'électrolyse anodique de 3_c (figure 9_b) avec ceux donnés par 5_c dans le même milieu (figure 9_a). On constate que la morphologie des polarogrammes est la même. Ils présentent une vague symétrique coupant la ligne de zéro de courant pour $E = -0,80$ V.

Les entités à l'origine de ce comportement TRANSITOIRE n'ont pas pu être déterminées avec certitude. Néanmoins, une étude bibliographique(12) et des recherches que nous avons effectuées sur le dithiodiglycolate, montrent que les liaisons S-S sont instables en milieu alcalin ; elles peuvent en particulier subir une coupure dismutante. Dans le cas de 5_c celle-ci s'écrit :



Il est évident que si le potentiel de la nappe de mercure est fixé à $-0,30$ V, 1_c doit se réoxyder en 5_c . En ce qui concerne 6_b , il serait à l'origine de la vague cathodique ($E_{1/2} = -0,82$ V, figures 9_a et 9_b).

En effet, une étude effectuée au laboratoire (22) a montré que le thioglyoxylate S=CH-COO^- donnait une vague au même potentiel. Quant à la partie anodique de la vague symétrique on peut se demander si elle n'est pas due à la forme hydratée 6_c en équilibre avec 6_b . L'existence de 6_b en solution permet de justifier également la décarboxylation quantitative observée ; on peut à cet égard, envisager deux pro-

Electrolyse anodique sur nappe de mercure :

NaOH N, $E = -0,30\text{ V}$, $[\beta\text{ mercaptopyruvate}] = 0,02\text{ M}$, i courant anodique

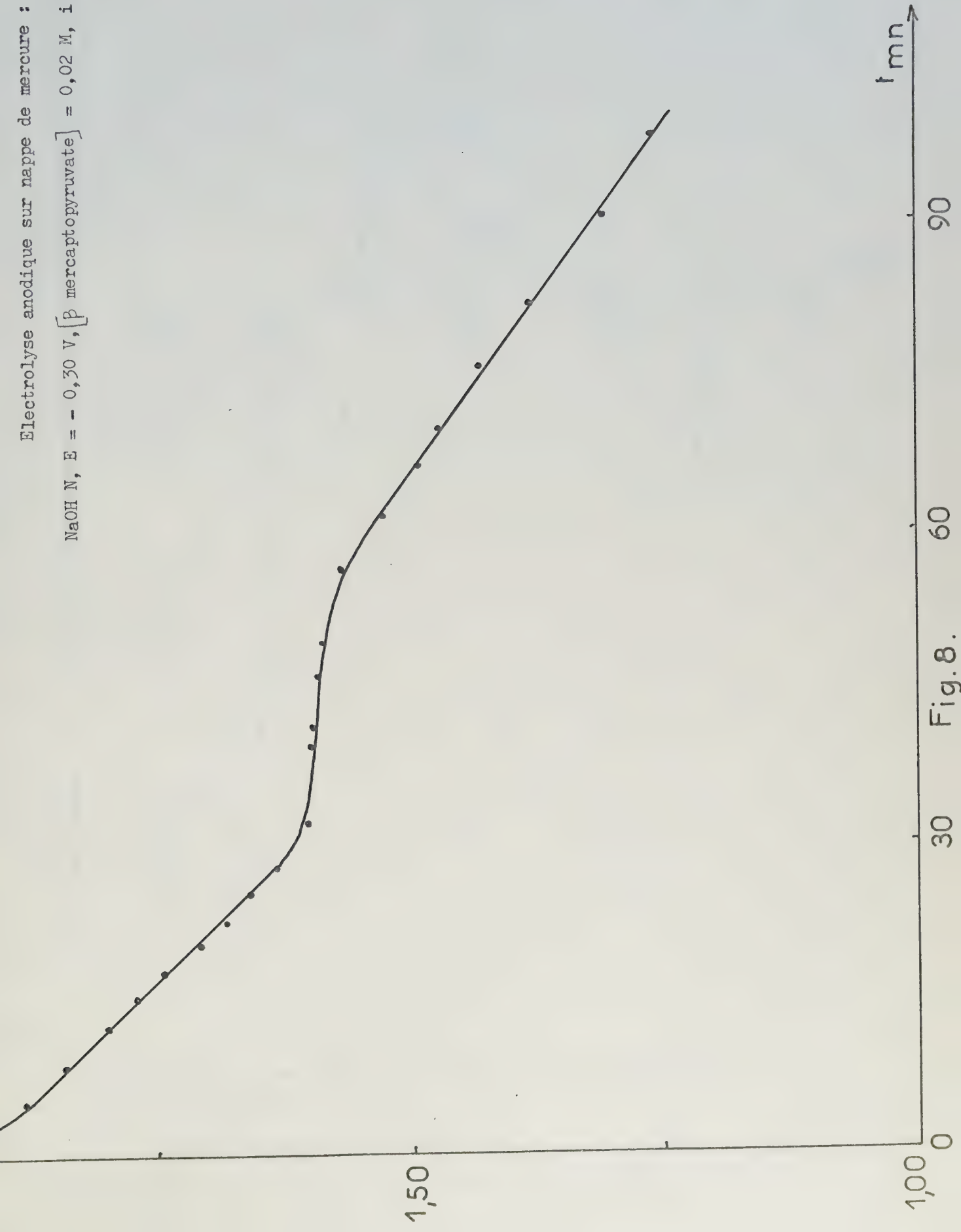


Fig.8.

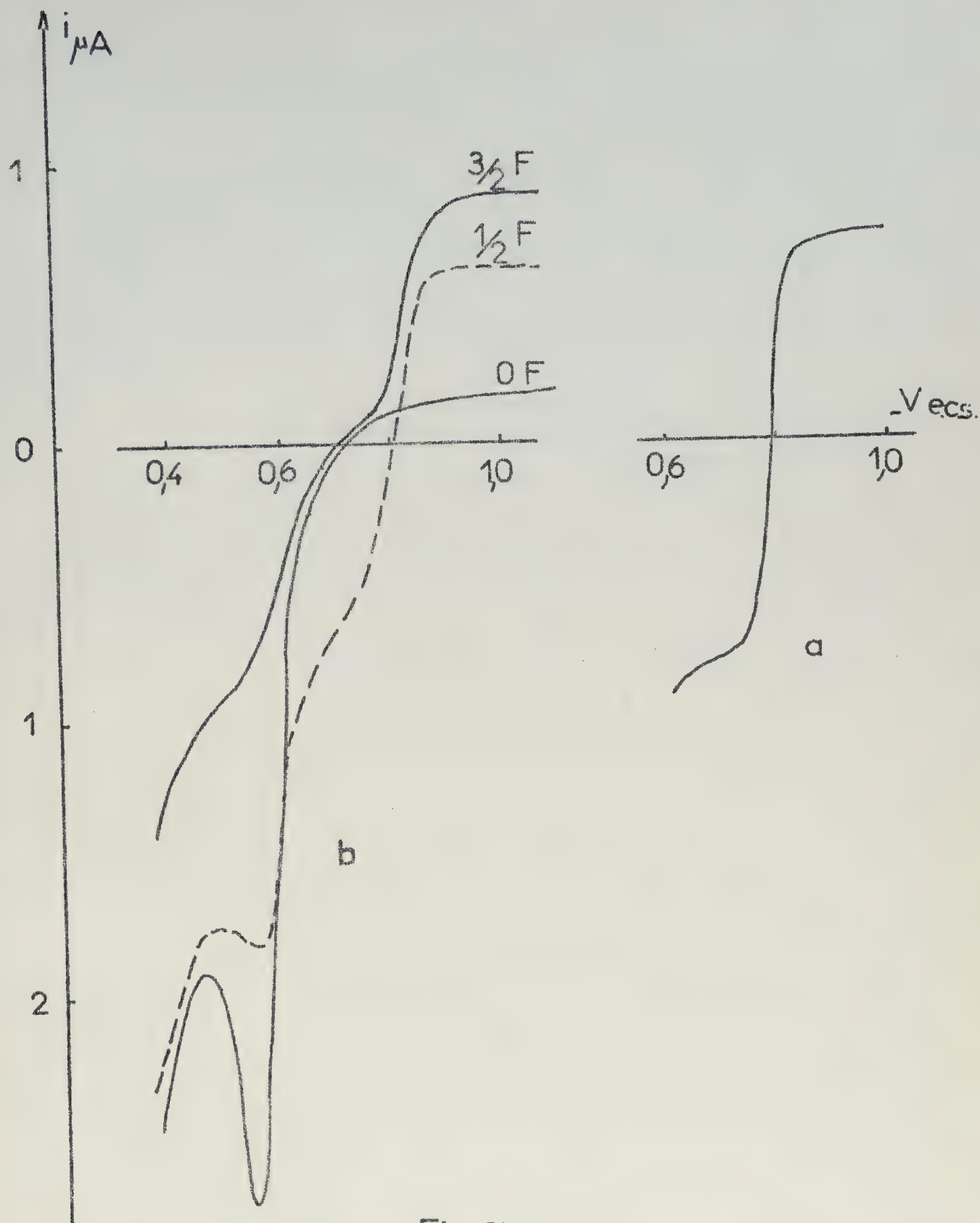
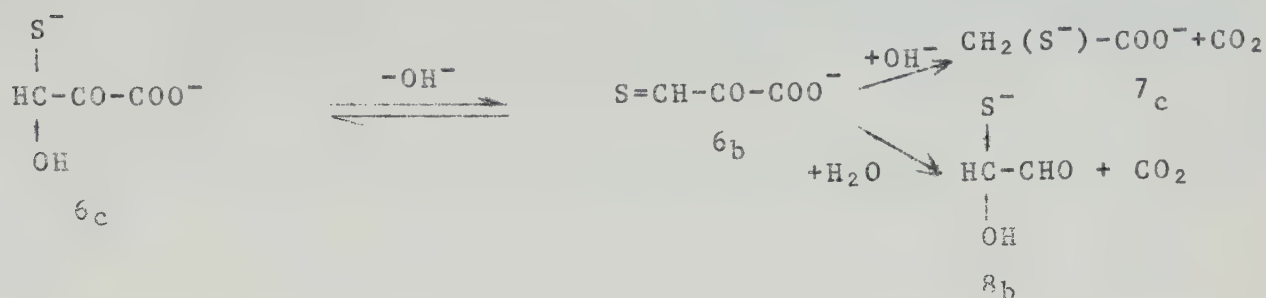


Fig.9.

- a) Polarogramme correspondant à une solution 10^{-3} M en dithiodipyrivate dans la soude 0,2 N.
- b) Polarogrammes enregistrés $C = 10^{-3}$ M, lors d'une électrolyse sur nappe de mercure $E = -0,30$ V ; $[\beta \text{ mercaptopyrivate}] = 0,02$ M ; NaOH 0,2 N.

cessus : une réaction génératrice de thioglycolate (7_c) ; une autre donnant le thioaldéhyde correspondant au glyoxal (8_b).



L'hypothèse de la formation de 7_c doit être exclue. En effet, si 7_c apparaissait au cours de l'électrolyse anodique, il serait oxydé lui-même en dithiodiglycolate 9_b . D'après l'étude que nous avons faite sur le comportement des solutions aqueuses de dithiodiglycolate, dans la soude 0,2 N l'évolution suivante se produirait :

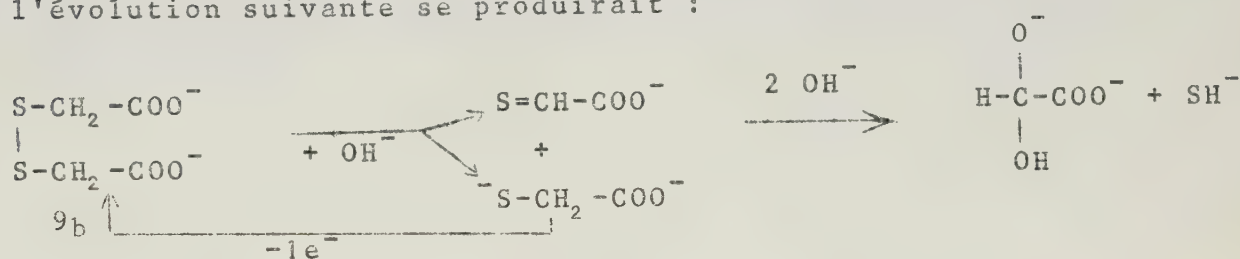
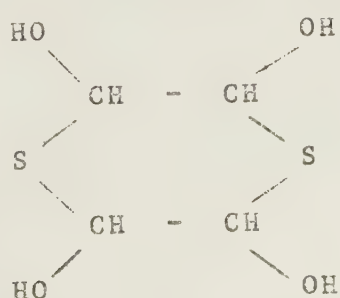


TABLEAU V

Dans ces conditions, on ferait passer au total 4 F et on devrait caractériser finalement dans la solution une mole de carbonate, une mole de glyoxylate et une mole de sulfure par mole de β mercaptopyruvate initiale, ce que l'expérience infirme. Il faut donc admettre que le terme décarboxylé est 8_b plutôt que 7_c . Néanmoins, on trouve que la solution oxydée après passage de 2 F est totalement inerte tant du point de vue potentiométrique que polarographique ; le comportement peut être justifié si l'on admet que 8_b se condense en donnant par exemple un double hémimercaptal 8_a :



Cette hypothèse semble confirmée par l'isolement d'un sel de plomb, dont l'analyse correspond à la formule brute $\text{PbC}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{S}_2$,

obtenu après acidification à pH 4,0 de la solution oxydée, dégazage abondant pour chasser CO_2 , et réalcalinisation à pH 6.

4°) Conclusion sur le comportement anodique

Deux processus différents sont à considérer selon le pH :

pH < 12

L'oxydation est un processus REVERSIBLE à 1 F, correspondant à un mercaptide Hg (I), qui est d'ailleurs isolable.

pH > 12

Le processus à 2 F, globalement IRREVERSIBLE, peut être schématisé ainsi :

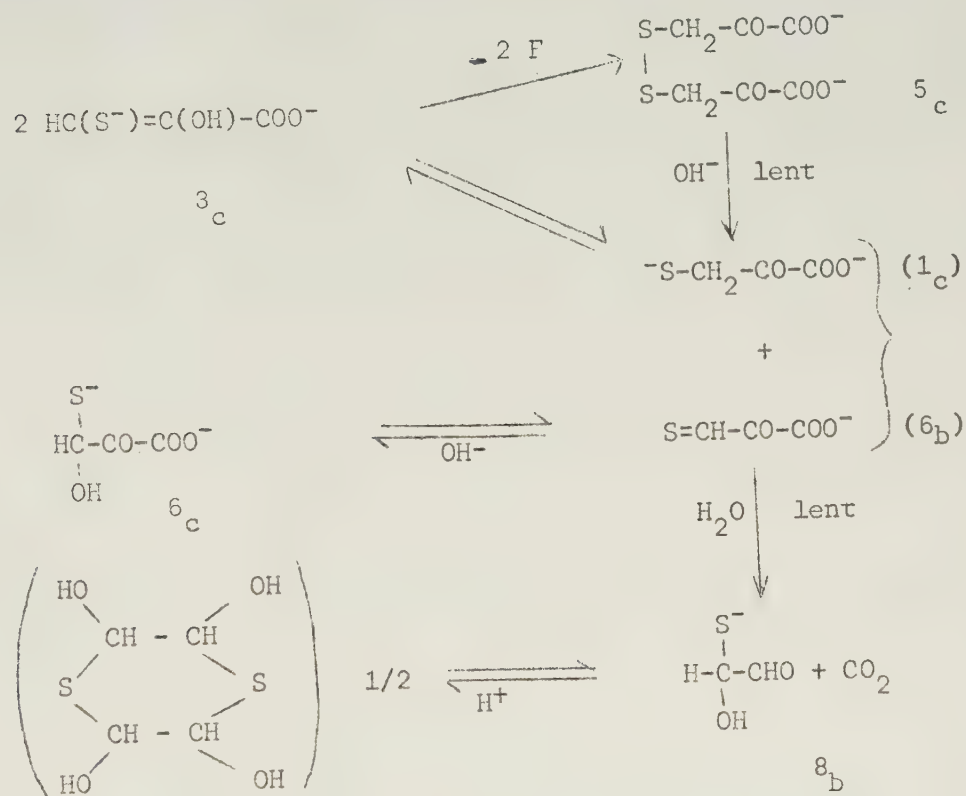


TABLEAU VI

II - ETUDE DE LA BICONDENSATION DU β MERCAPTOPYRUVATE

Comme il a déjà été signalé, les solutions aqueuses de β mercaptopyruvate présentent une évolution spontanée pour des pH compris entre 8 et 11,5 alors qu'elles sont stables hors de ce domaine. Cette évolution sera d'abord étudiée à un pH donné (10,4) ; puis interprétée dans tout le domaine de pH où elle a lieu.

1°) Mise en évidence de l'évolution

Initialement, on observe à pH 10,4 :

a) un spectre ultra-violet présentant deux bandes d'absorption : l'une à 230 nm ($\epsilon = 4\ 100$) qui serait due au groupement R-S⁻ l'autre, à 292 nm ($\epsilon = 7000$), serait liée à la forme ène-ol-thiolate 3_c (8).

b) un polarogramme sur lequel on peut discerner : pour C = 10⁻³M, deux vagues anodiques dues à l'oxydation du mercure réagissant sur le thiol : E 1/2 = -0,34 V (i=2,4 μ A) et E 1/2 = -0,54 V (i=1,2 μ A).

- une vague cathodique : E 1/2 = -1,50 V (i=5,3 μ A)

c) une acidité faible titrable de pK_a = 9,3 pour $\mu = 0,5$ à 20°C.

A 20°C, on observe, en fonction du temps, la disparition totale :

- de la bande à 292 nm
- de la vague la plus anodique (-0,34 V) au profit de celle de E 1/2 = -0,54 V, dont l'intensité passe de 1,2 à 2 μ A.
- de la vague cathodique.

- de l'acidité de $pK_a = 9,3$; elle est remplacée par une demi-acidité de $pK_a = 9,7$ pour $\mu = 0,5$.

On note également, une diminution de la bande à 230 nm, qui est réduite sensiblement à la moitié de sa valeur initiale.

2°) Etude cinétique

Généralement, les thiols donnent, en tampon carbonate, des vagues anodiques de $E_{1/2}$ compris entre -0,50 et -0,55 V. Il n'est donc pas étonnant que X^* donne une vague anodique de $E_{1/2} = -0,54$ V à pH 10,4 au même potentiel que la vague la plus cathodique de 3_c (A_2). De ce fait, la cinétique de la condensation ne peut être suivie à partir de $i_{A_2} = f(t)$; elle pourrait l'être à partir de $i_B = f(t)$, la vague B étant spécifique de 3_c , si la détermination de ϵ_{292} n'était beaucoup plus aisée. On trouve un ordre 2 par rapport à 3_c .

Les valeurs de k obtenues à 20°C, pour différentes concentrations initiales sont rassemblées dans le tableau VII.

10^2 C mole l^{-1}	1	1,75	2,5	4,0
10^3 $\bar{k}$ l mole $^{-1}$ mn $^{-1}$	8,0	8,1	8,0	8,0
t 1/2 mn	125	70	50	31

TABLEAU VII

Un sel de sodium peut être isolé après évolution de la solution ; (voir partie expérimentale) ; il correspond à la formule brute $Na C_3H_3O_3S$.

L'ordre deux par rapport au β mercaptopyruvate trouvé précédemment d'une part, la disparition de l'acidité de $pK_a=9,3$ et son remplacement par une DEMI-ACIDITE de $pK_a = 9,7$ d'autre part, nous ont incité à rechercher si le produit obtenu n'était pas BICONDENSE.

3°) Titration cryoscopique dans le sulfate de sodium décahydraté.

En utilisant 0,01 mole d'un sel de sodium de formule supposée $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6\text{S}_2$ et des réactifs titrés 5 N (soude et acide sulfurique), on obtient l'évolution représentée sur la figure 10.

a) Sur le titrage ALLER, on discerne un segment MN correspondant à la neutralisation d'une ACIDITE FAIBLE, suivi du segment NO, dont la pente coïncide avec la valeur théorique due à l'addition d'ions OH^- .

b) Sur le titrage EN RETOUR, après être revenu en M, deux acidités sont mises en évidence : une MOYENNE (segment MP) et une FORTE (segment PQ). La pente du segment QR est celle que l'on peut prévoir pour la concentration en ions H_3O^+ ajoutés.

4°) Discussion

L'ordonnée du point M correspondant à un Δ molaire de 1,85, on en déduit que la formule brute du sel de sodium est bien $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6\text{S}_2$, soit un degré de condensation de DEUX par rapport au β mercaptopyruvate.

D'après le titrage cryoscopique, on peut préciser que chaque mole de dimère présente deux acidités carboxyliques salifiées (MP et PQ), tandis qu'une troisième acidité faible est non salifiée (MN) ; ce qui est conforme aux résultats de l'analyse : le sel est disodique.

Quant à l'acidité faible libre, il semble qu'il s'agisse d'un thiol, responsable de la vague anodique observée et de l'absorption à 230 nm.

En ce qui concerne la condensation, on constate qu'elle n'intervient que dans un domaine de pH limité dans

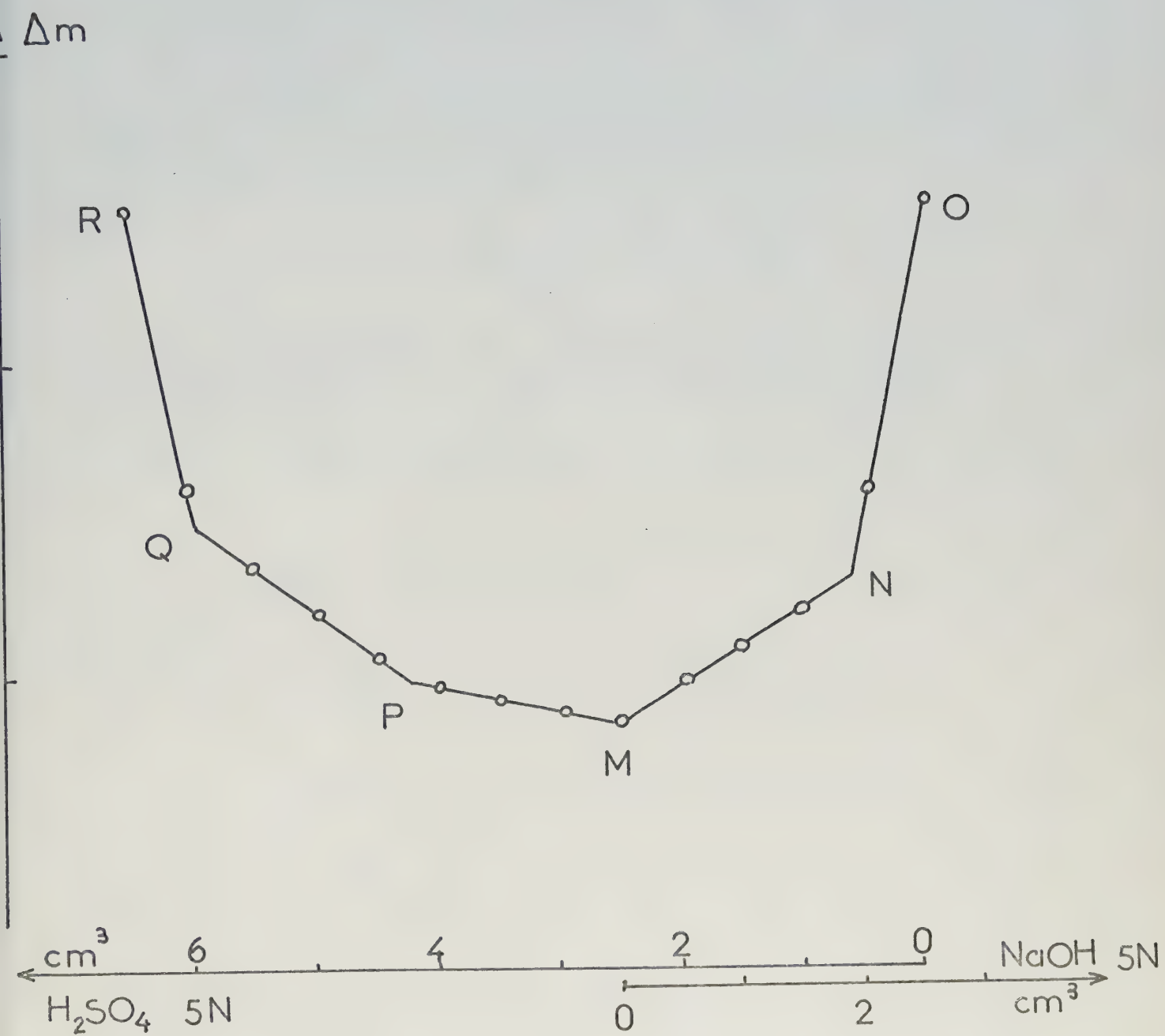
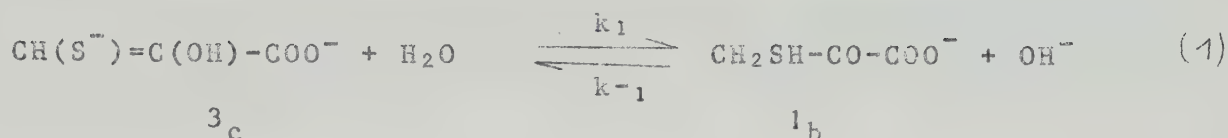


Fig.10.

Titration cryoscopique d'une solution 0,2 M de sel de sodium $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6\text{S}_2$.

lequel coexistent en équilibre les formes 3_c et 1_b :



On peut, pour la bicondensation, envisager le mécanisme suivant : la première étape consisterait en la réaction 1; la seconde en la condensation:



Appliquant à 1_b , pratiquement inexistant en milieu basique, l'hypothèse de l'ETAT STATIONNAIRE, on obtient :

$$k_1 [3_c] - k_{-1} [1_b] [\text{OH}^-] - k_2 [3_c] [1_b] = 0$$

$$[1_b] = \frac{k_1 [3_c]}{k_{-1} [\text{OH}^-] + k_2 [3_c]}$$

$$v = \frac{d[\text{X}]}{dt} = k_2 [1_b] [3_c] = \frac{k_1 k_2 [3_c]^2}{k_{-1} [\text{OH}^-] + k_2 [3_c]}$$

Si $k_2 [3_c]$ est négligeable devant $k_{-1} [\text{OH}^-]$, l'expression se ramène à :

$$v = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} [\text{OH}^-]} [3_c]^2$$

ce qui justifie l'ordre deux par rapport à 3_c trouvé expérimentalement avec :

$$\bar{k} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} [\text{OH}^-]}$$

Influence du pH

L'ordre -1 par rapport aux ions hydroxydes est vérifié par les valeurs trouvées pour $\bar{k}$ suivantes à 25°C, en tampon carbonate M.

$$\text{pH } 10,40 \quad k = 0,80$$

$$\text{pH } 10,67 \quad k = 0,44$$

$$\Delta \log k / \Delta \text{pH} = \frac{-0,26}{0,27} = -0,96 \approx -1$$

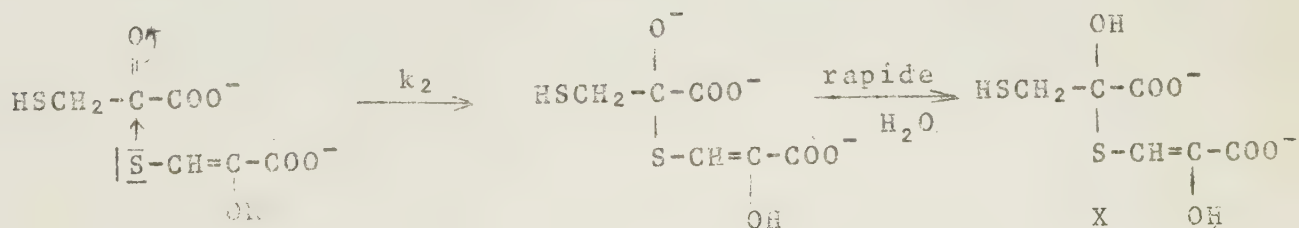
Dans le cas contraire, où $k_{-1} [\text{OH}^-]$ serait négligeable devant $k_2 [3_c]$, l'expression de la vitesse deviendrait :

$$v = k_1 [3_c]$$

On vérifie effectivement que la réaction est d'ordre un par rapport à 3_c à pH 9,40 où la valeur trouvée expérimentalement pour k_1 ne dépend pas de la concentration initiale en 3_c : trouvé à 25°C, pour C_0 variant de 10^{-2} à $5 \cdot 10^{-2}$; $k_1 = 3,3 \cdot 10^{-3} \text{ mn}^{-1}$.

Pour des valeurs de pH supérieures à 11,5 les solutions aqueuses de β mercaptopyruvate 3_c sont stables en fonction du temps ; la réaction de bicondensation n'intervient donc plus.

Si l'on admet que cette absence de réactivité est consécutive à l'ionisation de l'hydroxyle de 3_c , on peut donc pour la réaction de condensation proposer le schéma suivant :



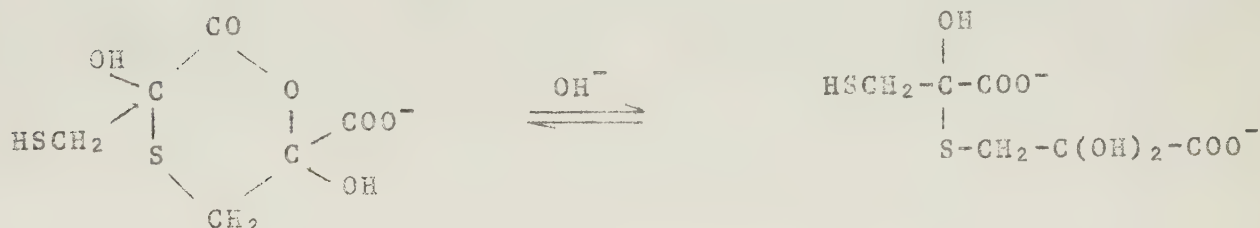
La formule proposée pour X est compatible :

- avec les résultats donnés par l'analyse du sel disodique $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6\text{S}_2$.

- avec les manifestations d'une fonction thiol (vague anodique ; 1/2 acidité titrable de $\text{pK}_a = 9,7$ par mole de monomère).

- avec la possibilité d'obtenir encore une semi-carbazone, bien qu'il n'existe pas de carbonyle réductible à l'électrode à goutte ; ce serait donc à la suite d'une tautomérie énol $\rightleftharpoons$ cétone.

A cet égard cependant, si X possède réellement le groupement $\text{R-S-CH=C(OH)-COO}^-$, la disparition totale de la bande à 292 nm est surprenante ; on ne peut exclure que, en solution aqueuse, X se soit réarrangé selon :



Quelle que soit la structure exacte de X, la réaction de bicondensation justifie l'anomalie signalée lors des coulométriques anodiques ($n < 1 \text{ F}$) dans le domaine de pH compris entre 8 et 11,5.

En abaissant la température au voisinage de 0°C , la réaction de bicondensation est ralentie et l'oxydation met en jeu 1 F par mole de β mercaptopyruvate 3_c , en tampon carbonate pH 10,2.

TROISIEME PARTIE

ETUDE DE DERIVES DU TYPE $(-S-CH_2-COR)_2$

ACIDE DITHIODIPYRUVIQUE

ACIDE DITHIODIACETIQUE

I - ACIDE DITHIODIPYRUVIQUE

INTRODUCTION

L'oxydation sur nappe de mercure, d'une mole de β mercaptopyruvate 3_c , en milieu de pH supérieur à 12, se révèle complexe ; dans le bilan global, deux Faradays sont mis en jeu et il apparaît une mole de dioxyde de carbone (voir partie II).

Le graphe de $\lg i = f(t)$ (figure 8) montre, qu'au début de l'électrolyse le processus est monoélectronique : il se formerait, intermédiairement, du dithiodipyrivate 5_c dont l'étude est maintenant **ab**ordée.

La préparation de l'acide dithiodipyrivate $[-S-CH_2-CO-COOH]_2$ 5_a est exposée dans la partie expérimentale ; il s'agit de la première étape de l'oxydation de 2_a dont le terme ultime est l'acide sulfurique (6).

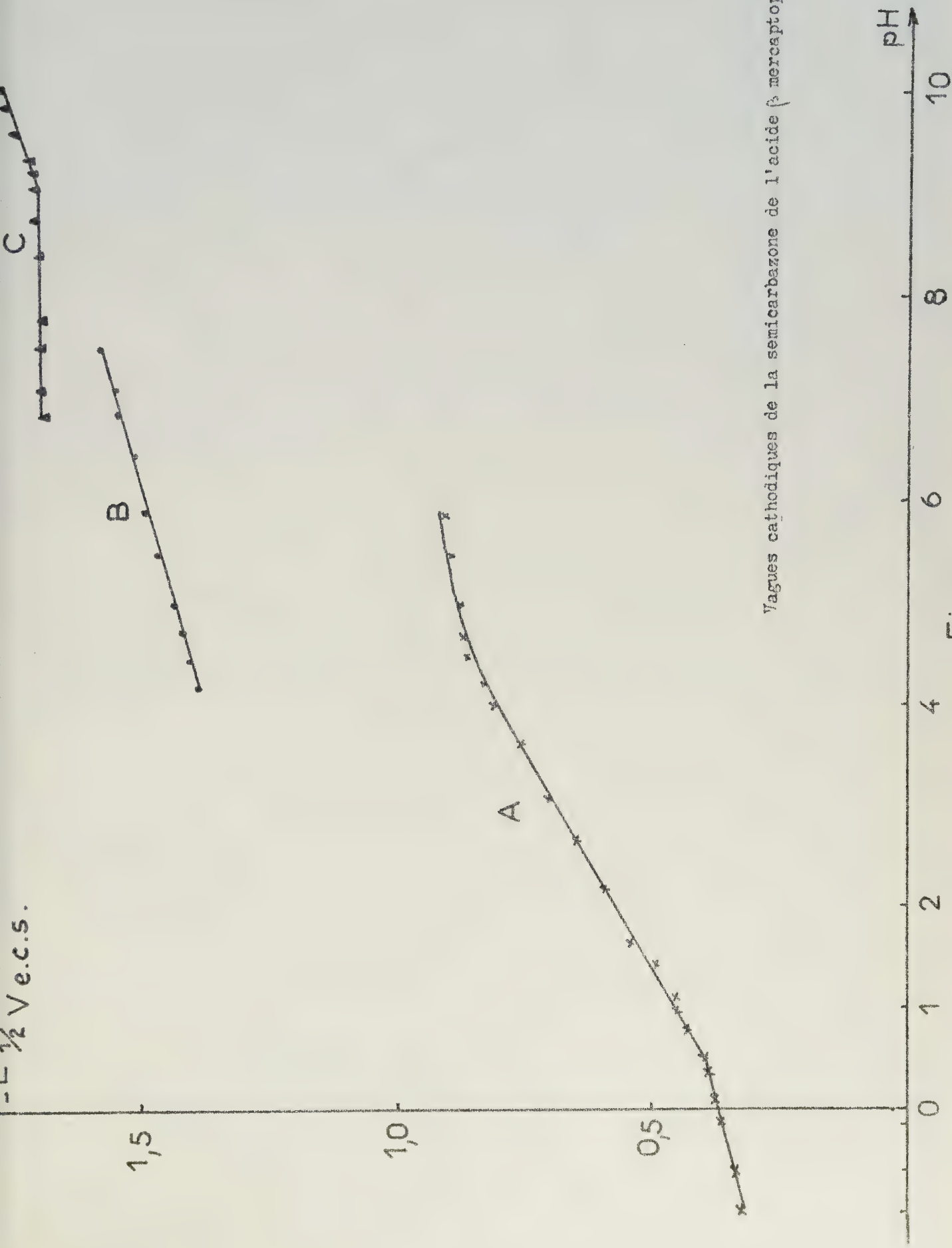
Nous allons étudier le comportement polarographique et spectrophotométrique de 5_a dont l'identification convenable a été effectuée en comparant les propriétés des semicarbazones $5'$ $[-S-CH_2-C(=N-NH-CO-NH_2)-COOH]_2$ et l' $CH_2SH-C(=N-NH-CO-NH_2)-COOH$.

1°) Comportement cathodique à l'électrode à goutte de mercure des semicarbazones des acides β mercaptopyruvique et dithiodipyrivate.

a) Semicarbazone $HS-CH_2-C(=N-NH-CO-NH_2)-COOH$ 1'

On peut distinguer plusieurs zones de pH (figures 11 et 12) :

6 00



Vagues cathodiques de la semicarbazone de l'acide β mercaptopyruvique.

Fig.11.

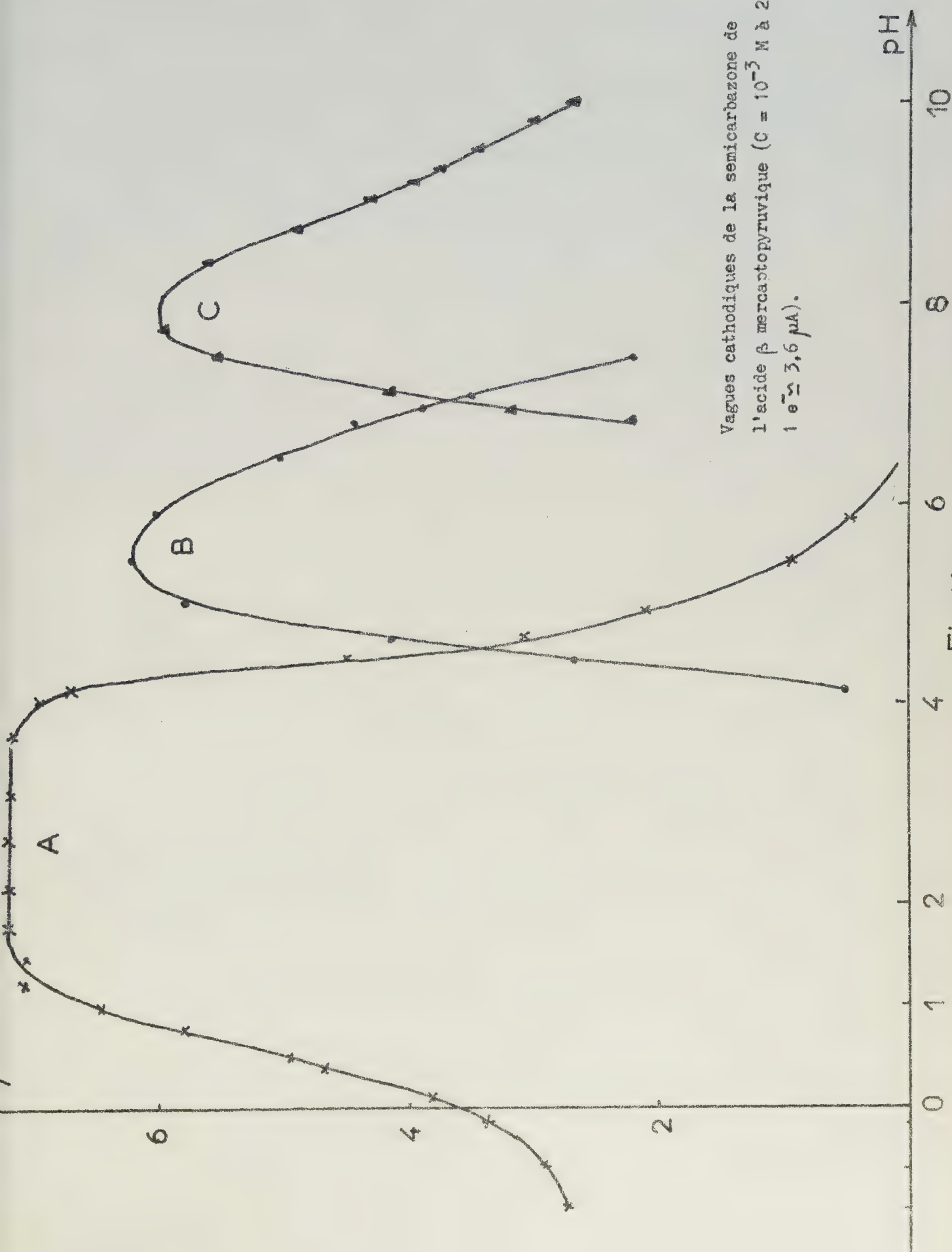


Fig.12.

$$\text{pH} < 4$$

On observe une seule vague (A) dont l'intensité limite, d'abord croissante jusqu'à $\text{pH} \approx 1,5$, est constante au-delà et correspond à 2 Faradays par mole de $1'$. Le potentiel de demi-vague varie linéairement avec le pH : $z \approx 52 \text{ mV/u.pH}$ jusqu'à $\text{pH} \approx 0,5$, puis 120 au-delà.

$$4 < \text{pH} < 5,5$$

La vague A diminue au profit d'une vague B, plus négative, de pente $z \approx 50$. Dans cet intervalle de pH, $(i_A + i_B)$ demeure sensiblement constante et correspond à 2 Faradays par mole initiale de $1'$.

$$5,5 < \text{pH} < 8$$

L'intensité limite de la vague B diminue progressivement. A partir de $\text{pH} \approx 6,8$ apparaît une vague plus négative, de potentiel de demi-vague sensiblement constant en fonction du pH.

$$8 < \text{pH} < 10$$

A partir de la valeur maximale, obtenue pour $\text{pH} \approx 8$, l'intensité limite de la vague C décroît et finit par se confondre avec le courant de base pour $\text{pH} > 10$. $E^{1/2}$ est sensiblement constant jusqu'à $\text{pH} \approx 9,0$ puis varie linéairement au-delà ($z \approx 60$).

Interprétation des polarogrammes

Le comportement polarographique de $1'$ est typique des semicarbazones d'acides α carbonylés, pour lesquelles un processus cinétique à deux Faradays a été mis en évidence

(23), et confirmé par électrolyse sur nappe de mercure à potentiel fixé.

Les vagues A et B correspondraient à la réduction des cations immoniums : $\text{HS-CH}_2\text{-C(=NH-NH-CO-NH}_2\text{)-COOH}$ et $\text{HS-CH}_2\text{-C(=NH-NH-CO-NH}_2\text{)-COO}^-$.

Le passage de la vague A à la vague B, lié à la cessation de protonation du carboxylate sur la goutte de mercure, permet de déterminer un pK' apparent ; il est égal à la valeur de pH pour laquelle $i_A = i_B$, soit sensiblement 4,5.

Les pentes z trouvées pour A et B, peuvent s'expliquer par l'intervention d'un ou de deux équilibres acido-basiques précédant la réduction.

La vague C_1 peut, sans ambiguïté, être attribuée à la réduction de $\text{CH}_2\text{SH-C(=N-NH-CO-NH}_2\text{)-COO}^-$. Le passage de la vague B à la vague C serait lié au déplacement de l'équilibre :

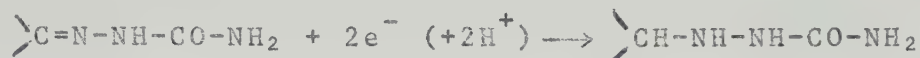
$\text{HS-CH}_2\text{-C(=NH-NH-CO-NH}_2\text{)-COO}^- \rightleftharpoons \text{HS-CH}_2\text{-C(=N-NH-CO-NH}_2\text{)-COO}^- + \text{H}^+$
dans le sens $\longrightarrow$, sur la goutte de mercure. Le pH (7,0) pour lequel on observe $i_B = i_C$ correspond au pK' de cet équilibre.

La décroissance de la vague C_2 , en fonction du pH, permet de supposer que la réduction de la semicarbazote en milieu basique, a lieu par l'intermédiaire de la forme acide thiol. La pente z (≈ 60) serait alors attribuable à l'équilibre de protonation antécédente ;



Quel que soit le degré d'ionisation du dépolarisant,

le processus de réduction est toujours biélectronique : on obtient la semicarbazone substituée :



b) Semicarbazone $[-S-CH_2-C(=N-NH-CO-NH_2)-COOH]_2$ 5'

Les résultats sont rapportés à une demi-mole de 5' afin qu'ils soient directement comparables à ceux déjà exposés pour 1'. Sur la figure 13', on constate que les potentiels de demi-vague en fonction du pH pour B et C₁ sont représentées par des segments de droite superposables avec ceux obtenus pour 1'.

Les vagues A (2 F) diffèrent légèrement : elles sont décalées vers les potentiels anodiques (environ 50 mV à pH 2). Les vagues C₂ sont également distinctes. Elles coupent les paliers de potentiels C₁ à pH ≈ 8,3 pour 5' et pH ≈ 9 pour 1'.

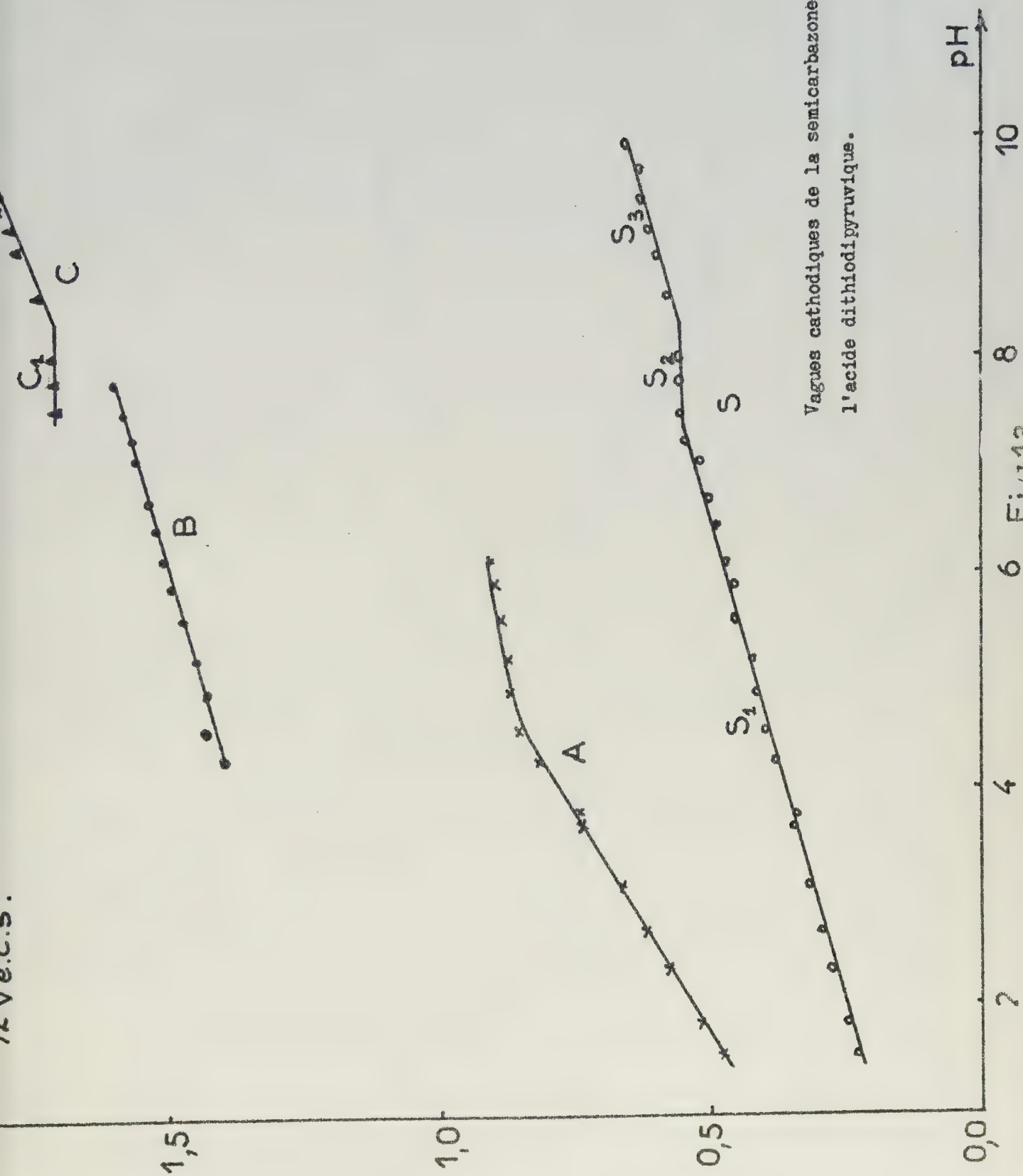
L'existence de la vague S marque la différence essentielle entre 5' et 1'. L'intensité limite (0,9 F) est pratiquement constante jusqu'à pH ≈ 7, puis après avoir décro, le redevient (0,75 F) au-delà de pH ≈ 8,3. Le potentiel de demi-vague varie, au contraire, linéairement avec le pH jusqu'à 7,3 (S₁) (z ≈ 56 mV/u.pH), demeure ensuite sensiblement constant (S₂) jusqu'à pH ≈ 8,3, puis au-delà reprend sa pente initiale (S₃)

Interprétation des polarogrammes

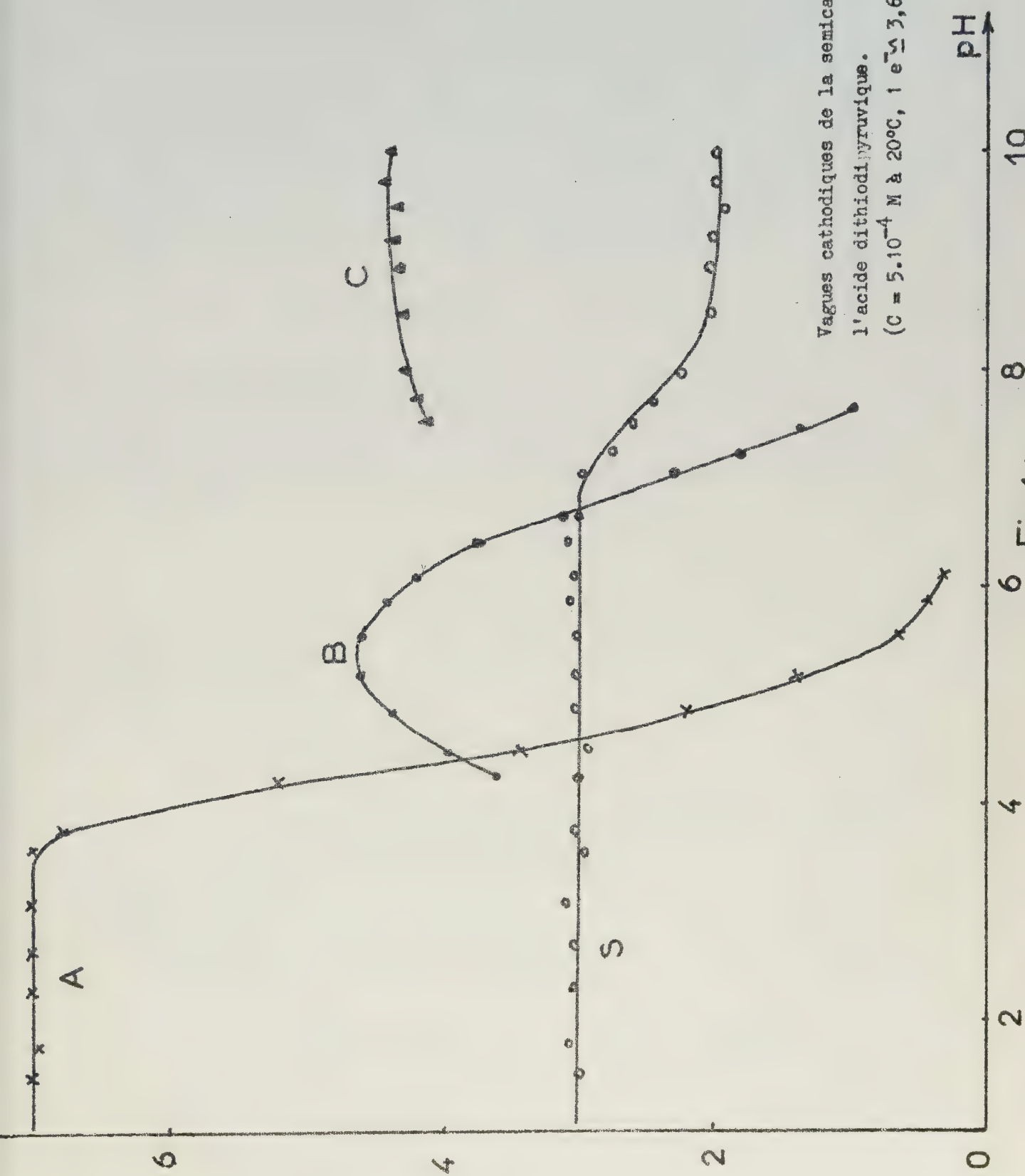
- Vague S

L'existence de la vague S constatée uniquement pour

12 V.E.C.S.



Vagues cathodiques de la semicarbazone de l'acide dithiodipyrannique.



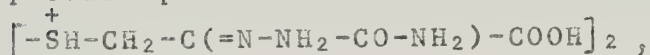
Vagues cathodiques de la semicarbazone de l'acide dithiodipyruvique.
 ($C = 5 \cdot 10^{-4}$ M à 20°C , $1 \text{ e}^{-} \approx 3,6 \mu\text{A}$).

Fig.14.

5' marque la différence essentielle avec 1'. Des électrolyses à potentiel fixé, sur nappe de mercure, au niveau du palier de S₁ (-0,50 V à pH ≈ 3,6) donnent, après passage de 1 F par demi-mole de 5', un produit réduit ayant les mêmes comportements polarographiques et spectrophotométriques U.V. que 1'. On peut dans ces conditions, attribuer la vague S à la réduction de la liaison S-S. 5' est donc bien ainsi la semicarbazone de l'acide dithiodipyruvique.

Plus précisément ,

la vague S₁ correspondrait à la réduction de



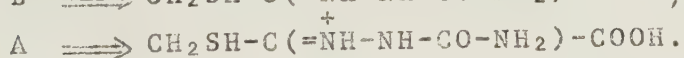
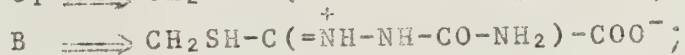
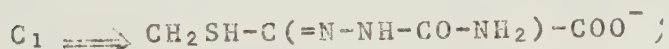
la vague S₂ à celle de $\left[-\text{S}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{N}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2)-\text{COO}^- \right]_2 ,$

enfin S₃ à celle de $\left[-\text{S}-\overset{-}{\text{CH}}-\text{C}(=\text{N}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2)-\text{COO}^- \right]_2 ,$

les hydrogènes fixés sur le carbone en α du pont disulfure ayant un caractère acide (24). On justifie ainsi la succession des pentes z trouvées pour S₁, S₂, S₃ : 56,0 et 55.

- Vague A,B et C₁

Elles sont relatives aux réductions des mêmes entités que celles déjà décrites pour 1'



En définitive, on est amené à distinguer 3 pK' apparents.

-Vague C₂

Elle serait attribuable à la réduction de la liaison $\geq C=N^-$ après protonation antécédente de $[-S-\bar{C}H-C(=N-NH-CO-NH_2)-COO^-]_2$

c) Comportement spectrophotométrique dans l'ultra-violet de 1' et 5'.

Les deux semicarbazones 1' et 5' présentent la même bande d'absorption ultra-violette. A pH 3,6 ; $\epsilon \approx 10\ 000$ à 255 nm, caractéristique des semicarbazones : $R-C(=N-NH-CO-NH_2)-COOH$.

Remarque

L'étude polarographique de la semicarbazone de l'ester méthylique de 5_a (obtenu par action du diazométhane (25) sur 5a) confirme le choix effectué dans l'attribution des vagues.

Dans le cas de 5' sous forme carboxylate, on trouve à pH 5,5, pour la vague B (figure 13), un $E^{1/2}$ de - 1,47 V, au lieu de -1,23 V dans le cas de l'ester. Ceci s'explique, si l'on admet que le carboxylate délocalise moins bien que l'ester, ce qui rend la réduction plus difficile. Cependant la pente observée avec la vague B ne peut concerner que l'équilibre acido-basique générateur de cation immonium et le passage de la vague B à la vague C est consécutif à la cessation de formation de ce cation.

Si bien qu'à pH 5,5, on a du point de vue de la réductibilité la séquence :



liée aux potentiels respectifs :

$$-1,47 \text{ V} < -1,23 \text{ V} < -0,98 \text{ V}$$

En définitive, la comparaison des propriétés de 1' et 5' permet d'affirmer l'existence d'un pont disulfure dans 5'. On en déduit que 5_a, à l'origine de 5', possède lui-même une liaison -S-S-. La première étape de l'oxydation de l'acide β mercaptopyruvique la par l'iode est donc bien l'acide dithiodipyruvique 5_a dont l'étude est maintenant abordée.

2°) Comportement électrochimique de $[-S-CH_2-CO-COOH]_2$ 5_a

a) Etude polarographique

L'étude en fonction du pH a été très difficile à réaliser du fait de l'instabilité des solutions. Elle n'est possible qu'à condition : de partir d'une solution de 5_a en tampon Mac Ilvaine pH ≈ 2,0 conservée dans la glace, et de limiter l'étude à pH < 6,0.

(Dans ces conditions, la stabilité de la solution mère est suffisante pour la durée des mesures).

Les résultats sont rapportés à une demi-mole de 5_a afin qu'ils soient directement comparables à ceux déjà exposés pour 1' et 5'. Dans le domaine de molarités utilisées ($C \leq 2 \cdot 10^{-3} M$), on a eu soin de vérifier la proportionnalité entre les intensités des courants et les molarités.

Dans le domaine de pH inférieur à 6,0, on observe tout d'abord deux vagues S et S', peu cathodiques, de hauteurs égales dont la somme est constante et de pente $z \approx 60$.

A côté de ces deux vagues, on observe également une vague plus cathodique, pour laquelle il y a lieu de distinguer plusieurs zones de pH (figure 15 et 16):

$$\text{pH} < 3,3$$

L'intensité de la vague A_1 croît rapidement avec le pH, tandis que le potentiel de demi-vague varie linéairement : $z \approx 90$.

$$3,3 < \text{pH} < 5,3$$

La pente z du segment A_2 est supérieure ($z \approx 200$) ; A_1 et A_2 se coupent pour $\text{pH} = 3,3$, tandis que l'intensité est maximale pour $\text{pH} = 4,5$.

$$\text{pH} > 5,3$$

La pente z observée en A_3 redevient égale à celle de A_1 ; les deux segments A_2 et A_3 se coupent pour $\text{pH} = 5,3$. De son côté l'intensité de A_3 décroît rapidement avec le pH. Pour $\text{pH} > 6$, une vague plus cathodique, de $E^{1/2}$ constant en $f(\text{pH})$ apparaîtrait ($E^{1/2} = -1,35$ V). Mais l'acidification de la solution ainsi polarographiée, montre que cette vague doit être attribuée non pas à 5_a mais à un produit de dégradation.

b) Coulométrie à potentiel fixé sur nappe de mercure, en milieu acide.

Il n'a pas été possible de réduire sélectivement la liaison -S-S- en choisissant convenablement le potentiel (par exemple $-0,35$ V à $\text{pH} \approx 2,4$) car le courant de réduction étant faible (14 mA pour une solution 10^{-2} M), la durée de l'électrolyse est trop importante (plusieurs heures). Dans

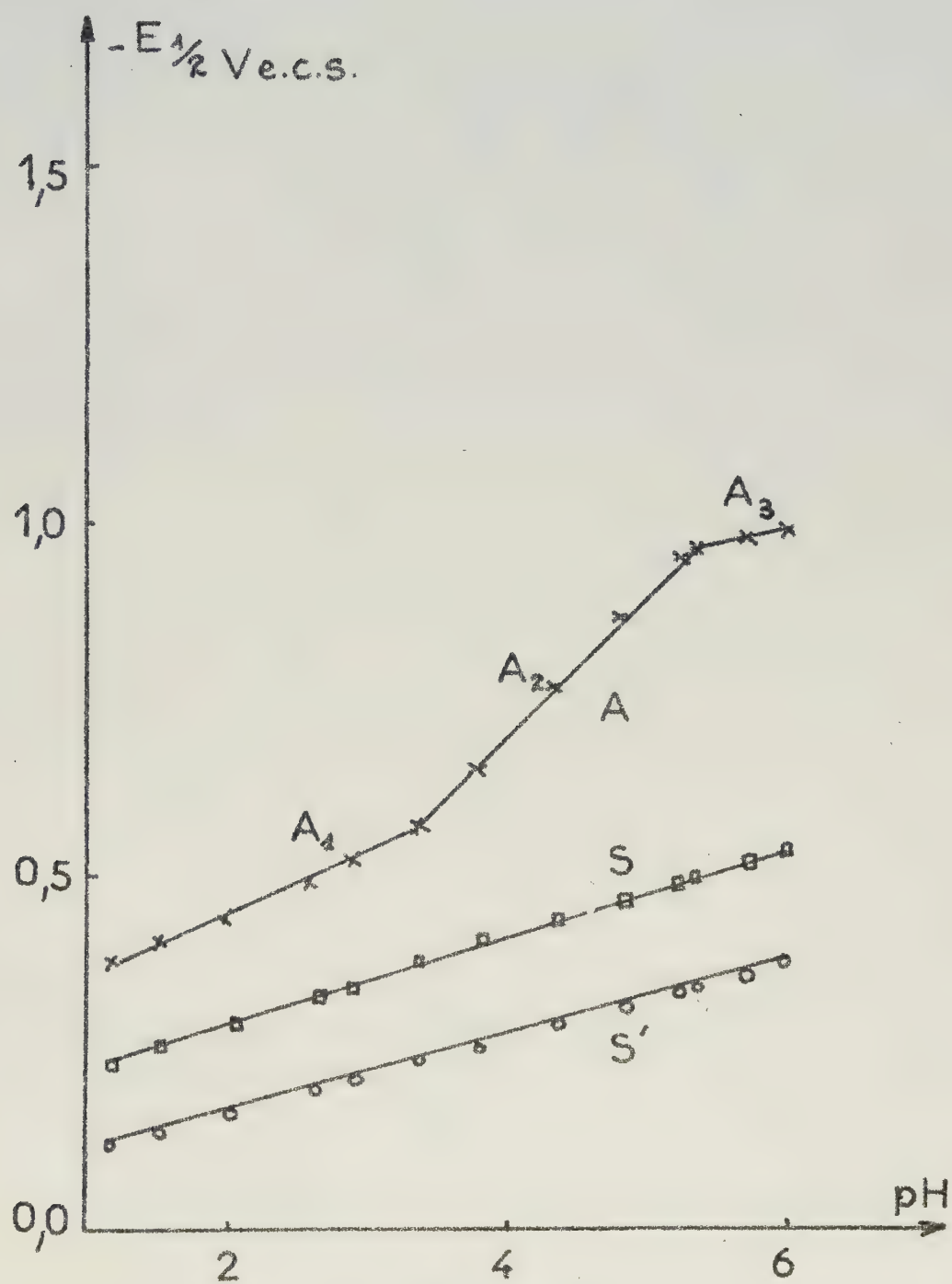


Fig.15.

Vagues cathodiques de l'acide dithiodipyruvique.

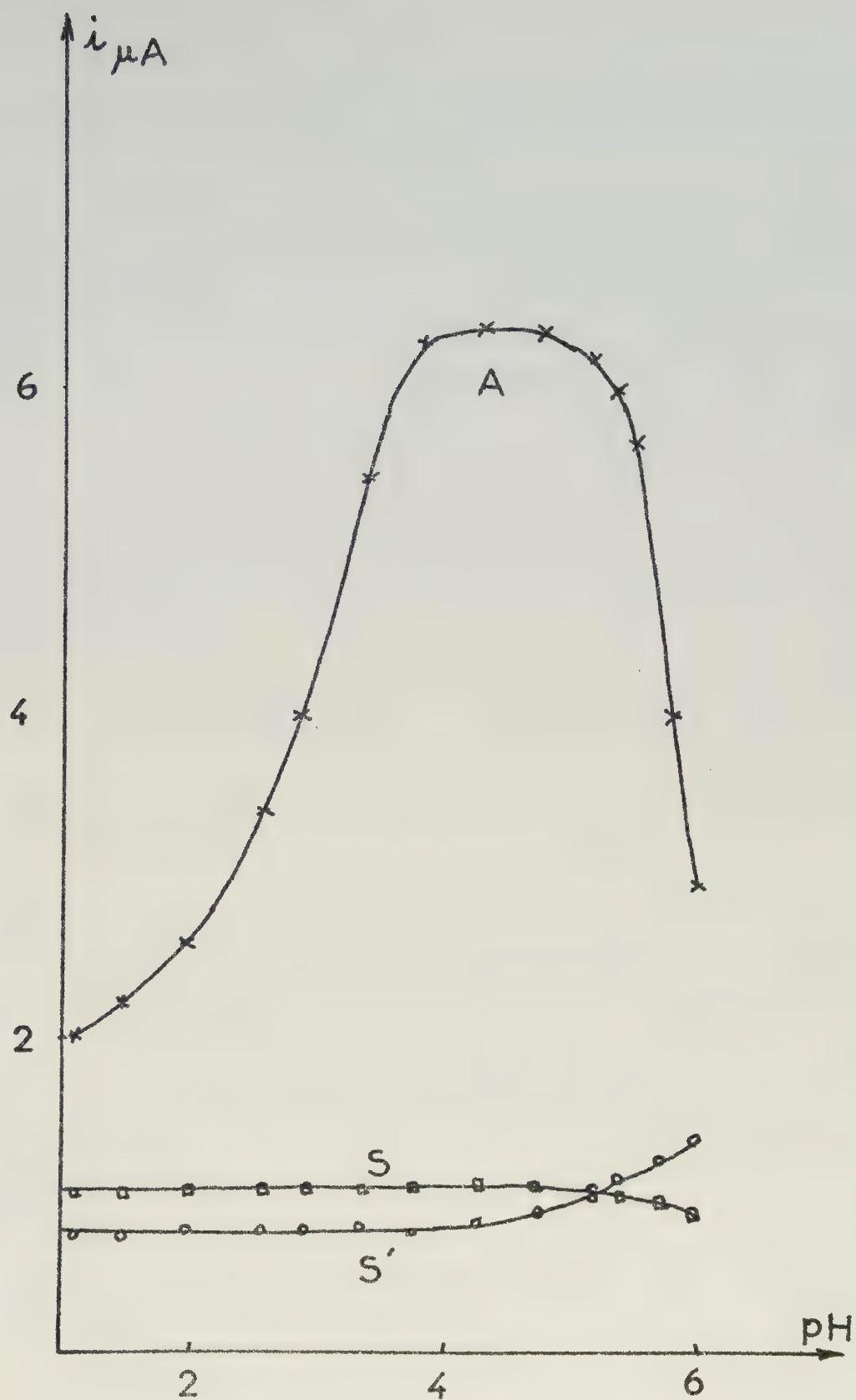
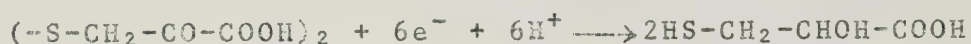


Fig.16.

Vagues cathodiques de l'acide dithiodipyruvique.
 ($C = 5 \cdot 10^{-4}$ M à 20°C , $1 e^- \approx 3,2 \mu\text{A}$).

ces conditions, des transformations chimiques irréversibles doivent se produire (voir plus loin).

Par contre, en imposant un potentiel beaucoup plus négatif (par exemple -0,80 V à pH $\approx$ 1,1), on enregistre un courant beaucoup plus important (136 mA pour une solution $2 \cdot 10^{-2}$ M) et le passage d'environ 3 F. On observe l'apparition d'une vague anodique de thiolate en milieu alcalin, la disparition des vagues cathodiques et l'absence de réactivité à la semicarbazide, même en excès. La solution réduite présente par titrage une acidité de pK = 9,7. Elle est également réoxydable par un équivalent d'iode environ. Dans ces conditions, la réduction doit correspondre au schéma global :



c) Interprétation des polarogrammes

Il faut distinguer les vagues S et S' de la vague plus cathodique. Il est évident que les vagues S et S', très analogues à celles données par l'acide dithiodiacétique correspondent à la rupture de la liaison S-S. Comme dans ce cas, l'étude doit être limitée au milieu acide, par suite de l'intervention d'une réaction de dégradation en milieu neutre et alcalin, dont l'étude sera exposée au paragraphe II.

Ainsi, 5 se comporte comme la cystine (26 a) qui donne deux vagues, alors que le glutathion oxydé (26b), comme 5', ne donne qu'une seule vague.

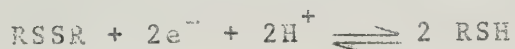
Les polarogrammes enregistrés à partir des solutions aqueuses de 5_a, préparées en oxydant 2_a par l'iode, contenant

donc des iodures, ne permettent pas de discerner S,S' et A. Les mécanismes de réduction sont apparemment très compliqués dans ces conditions (27, 28, 29).

Pour les liaisons S-S divers modes de réduction ont été proposés (26_b et 26_a) :



Soit globalement :



La première étape étant l'étape déterminante dans la réaction à l'électrode. On peut également envisager, précédant la réduction proprement dite, une réaction entre le mercure et le pont disulfure :

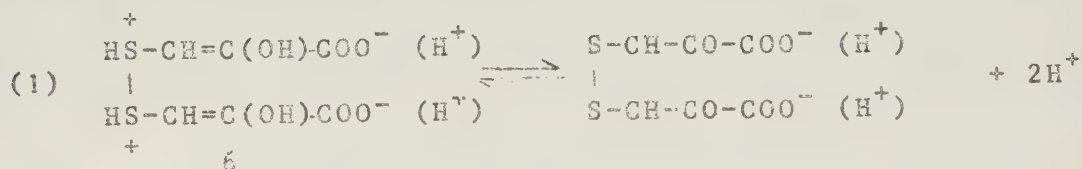


Quelle que soit la nature du mécanisme de réduction de la liaison S-S, il est évident que cette réduction n'est pas génératrice d'acide β mercaptopyruvique (1_a). En effet, l'intensité de la vague A₂ passe, pour pH 4,5, par une valeur maximale correspondant à 2 F. Il est exclu qu'un courant aussi intense puisse provenir de la réduction du carbonyle de (1_a), puisqu'il a été montré dans la première partie de ce travail, que l'acide β mercaptopyruvique sous forme hydratée (2_a), ne donne qu'un très faible courant cinétique de réduction.

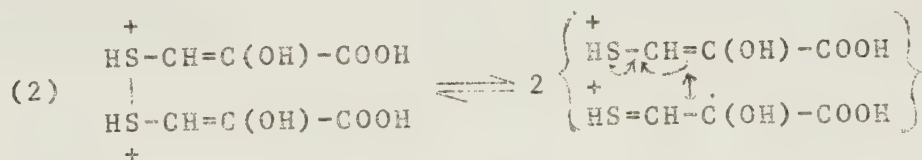
On pouvait encore envisager une rupture de la liaison carbone-hétéroatome, telle qu'elle a été observée dans le cas du paratolylthio 3 - céto 2 propanoïque (30). Cette hypothèse est infirmée par l'examen des $E^{1/2}$ correspondant aux vagues A_1 , A_2 et A_3 qui sont différents de ceux donnés par le pyruvate.

Les valeurs de z trouvées pour A_1 et A_3 étant égales à celles des vagues S et S' , nous pensons que le processus de réduction correspondant aux vagues A_1 , A_2 et A_3 est consécutif à un équilibre acido-basique générateur de cation sulfonium.

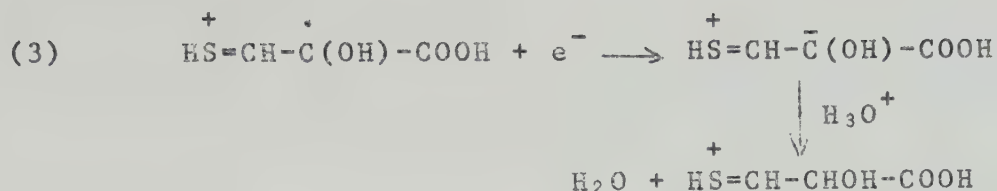
Alors que, comme le montre l'analyse des spectres U.V., l'acide dithiodipyruvique existe, en milieu acide ou neutre sous forme $(S-CH_2-CO-COO^- (H^+))_2, 5_2$, à l'électrode, on aurait la forme 6 dans laquelle le cation sulfonium est stabilisé par l'effet donneur de la double liaison.



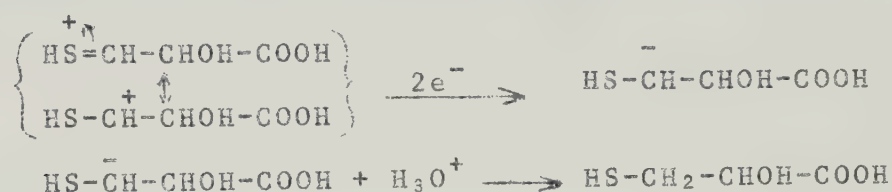
ce cation 6 subirait à l'électrode une coupure homolytique génératrice d'un radical qui serait stabilisé par résonance.



Ce serait tout d'abord, pour donner un carbanion très labile en solution aqueuse, ce radical qui se réduirait.



La deuxième étape de la réduction (vagues A₁, A₂ et A₃) comporterait les étapes suivantes :



Le passage de A₁ en A₂ correspondrait à l'ionisation du carboxyle (les segments A₁ et A₂ se coupant au pK_a = 3,3) ; tandis que la coupure des segments A₂ et A₃ définirait le pK' apparent du même équilibre acido-basique :



En d'autres termes, les segments A₁ et A₂ correspondent à la réduction par 2 F de $\overset{+}{\text{HS}}=\text{CH}-\text{CHOH}-\text{COOH}$, tandis que le segment A₃ correspond à la réduction de $\overset{+}{\text{HS}}=\text{CH}-\text{CHOH}-\text{COO}^-$.

L'intensité du courant de réduction décroît pour pH > 5,5 par suite de la diminution de $[\text{H}_3\text{O}^+]$, ce qui déplace l'équilibre 1 dans le sens $\longrightarrow$

En ce qui concerne la diminution d'intensité du courant en milieu acide, nous pensons qu'elle peut-être attribuée à une réaction de dégradation de S_a, catalysée aussi bien par les ions H₃O⁺ que par les ions OH⁻.

Cette dégradation, sur laquelle des études sont en cours en laboratoire, limiterait l'étude polarographique

aussi bien à $\text{pH} < 3,0$ que $> 6,0$. Elle s'effectue sans décarboxylation, avec maintien du pont -S-S- donc sans désulfuration, en deux étapes marquées d'abord par la disparition de la réactivité d'un des carbonyles par celle du second et l'apparition d'une acidité de $\text{pK} \approx 9,7$. Elle consisterait très vraisemblablement en une déshydratation intramoléculaire affectant les hydrates de carbonyles.

- En milieu alcalin, l'évolution de 5_c est beaucoup plus profonde et complexe en particulier par la rupture du pont disulfure, ce qui a nécessité l'étude d'une molécule plus simple : l'acide dithiodiacétique dont l'étude va être abordée maintenant.

II - ACIDE DITHIODIACETIQUE

Le mécanisme de la dégradation alcaline des acides dithiodicarboxyliques par rupture du pont disulfure étant très controversé (31 à 42), même pour le plus simple d'entre eux, l'acide dithiodiacétique 9_a , l'étude a été reprise par polarographie.

1°) Comportement cathodique de l'acide dithiodiacétique 9_a

Les résultats sont rapportés à une demi-mole de 9_a afin qu'ils soient directement comparables à ceux déjà exposés pour $1'_a$, $5'$ et 5 .

a) Etude polarographique

A $\text{pH} < 3,2$, les vagues enregistrées présentent un maximum important que l'on supprime aisément par la gélatine. Trois zones peuvent être discernées :

$$\text{pH} < 5,5$$

L'acide dithiodiacétique (ou ses ions) donne deux vagues cathodiques S et S' dont la somme des intensités limites correspond à 1 F par 1/2 mole de 9_a (figures 17 et 18). Jusqu'à $\text{pH} \approx 2,5$, la vague S présente une pente $z \approx 60$ qui peut s'expliquer par l'intervention d'un équilibre acido-basique :



L'augmentation de la valeur de z quand on passe de S_1 à S_2 est vraisemblablement consécutive à l'ionisation des carboxyles.

$$5,5 < \text{pH} < 10$$

Pas de vague visible.

$$\text{pH} > 10$$

Il n'y a pas de vague cathodique stable ; on observe par contre, l'apparition progressive d'une vague anodique ($-0,52$ V à $\text{pH} \approx 13,0$), présumant une réaction de dégradation.

b) Electrolyse à potentiel fixé sur nappe de mercure

En milieu acide, par exemple à $\text{pH} \approx 5,0$, au potentiel $-1,3$ V, les électrolyses ont montré que la liaison $-\text{S}-\text{S}-$ se réduisait en mettant en jeu 1 F par 1/2 mole de 9_c . La solution réduite donne, après dilution en milieu alcalin ($\text{pH} \approx 13$), une vague anodique de 1 F ($E^{1/2} = -0,56$ V),

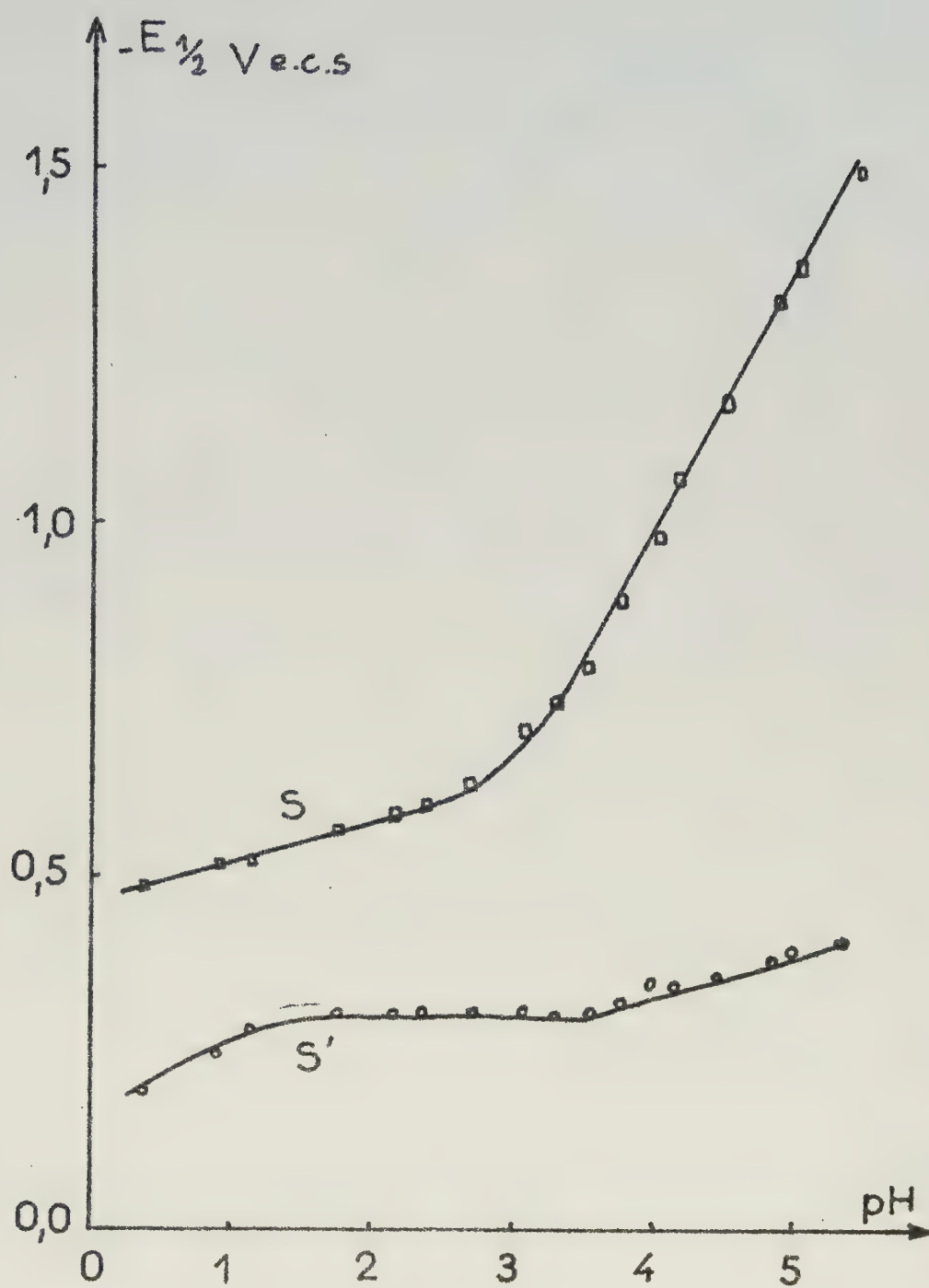


Fig.17.

Vagues cathodiques de l'acide dithiodiacétique.

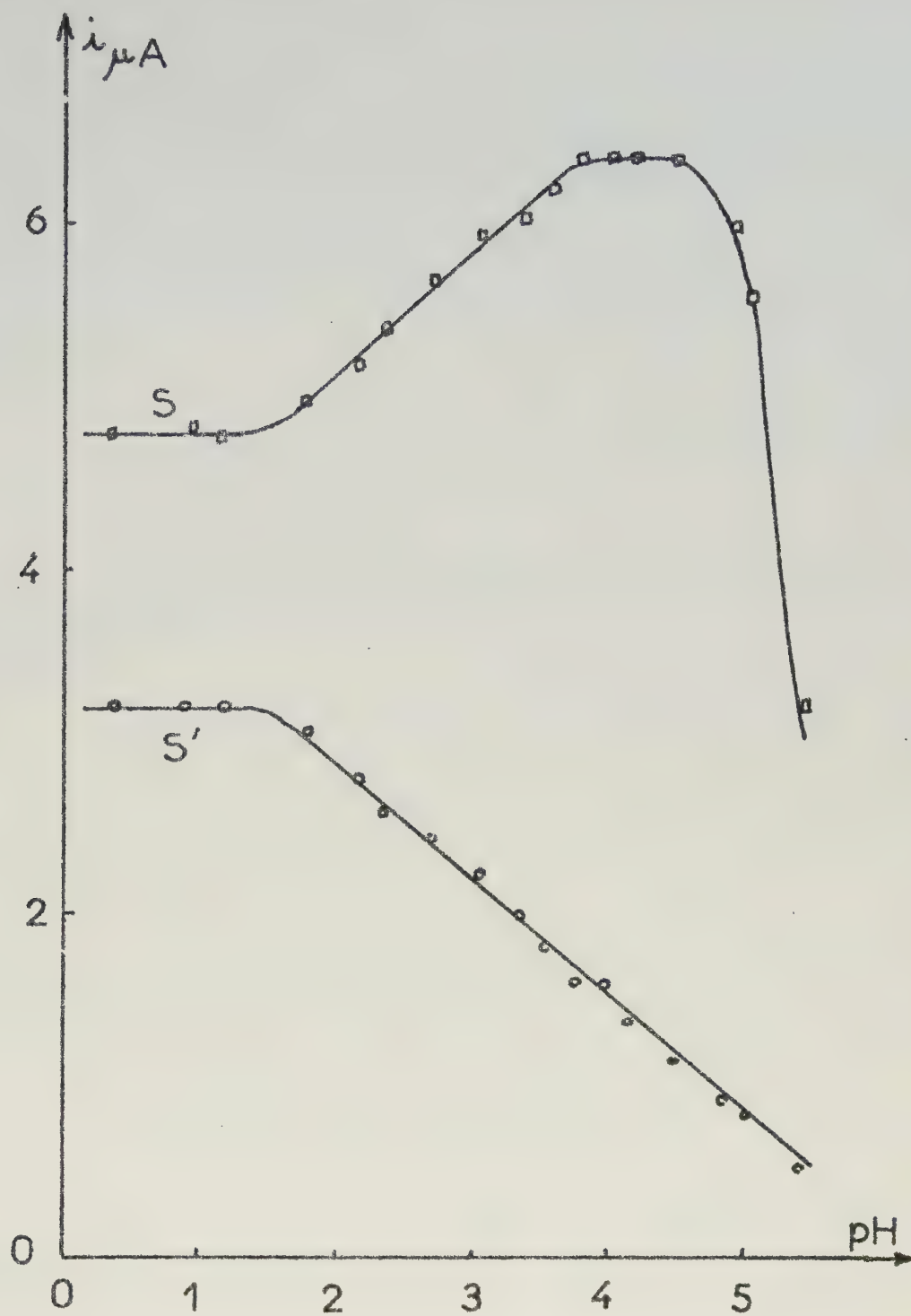
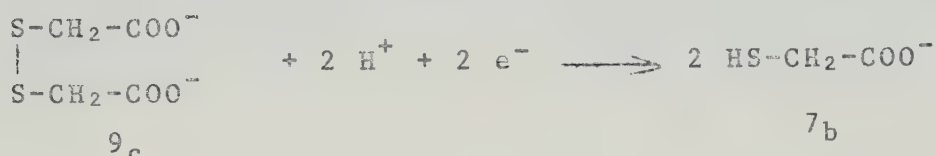


Fig.18.

Vagues cathodiques de l'acide dithiodiacétique.

($C = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ à 20°C , 1 e^- $3,6 \mu\text{A}$).

correspondant au thiolate 7c et visible d'autre part par potentiométrie (une acidité de $pK \approx 10,2$). A $pH < 5,5$, l'acide dithiodiacétique est donc réductible selon :



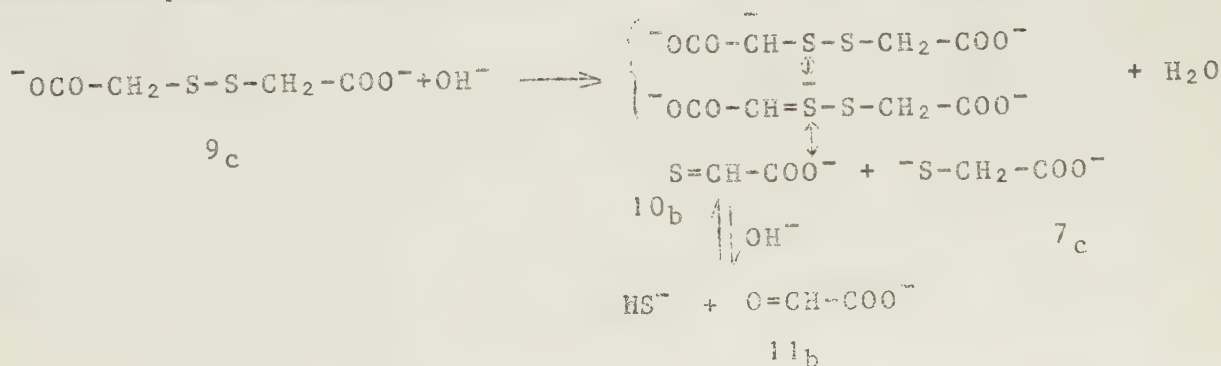
On remarquera qu'au palier de potentiel de la première vague, 9_a n'est pas réductible.

2°) Etude de la dégradation du dithiodiacétate en milieu alcalin

Quand une solution de dithiodiacétate ($2 \cdot 10^{-2}$ M) est alcalinisée à $pH \approx 13,2$, à 25°C , il apparaît une bande à 315 nm, dont l'évolution permet de suivre la réaction ; celle-ci est d'ordre un par rapport au dithiodiacétate. ($k = 0,45 \text{ mn}^{-1}$).

La dégradation observée est totale. En effet, la solution évoluée, acidifiée à $pH \approx 5,0$, n'est plus réductible sur nappe de mercure en acide thioacétique à $-1,30 \text{ V}$; on n'observe plus, en effet, sa vague anodique ($-0,56 \text{ V}$) après dilution de la solution dans la soude N/5.

A. ROSENTHAL et G. OSTER, ont proposé le mécanisme suivant pour la dégradation à $pH = 12,0$, (39 et 40) :



On constate que la solution dégradée à $\text{pH} \approx 13,2$ et diluée au même pH ne contient :

- ni thioglyoxylate 10_b : pas d'absorption à 335 nm ($\epsilon \approx 1400$) (40). Par contre la solution absorbe à 315 nm ($\epsilon \approx 300$).

- ni thioglycolate 7_c : pas de vague anodique de $E^{1/2} = -0,56$ V, ni d'acidité correspondante ($\text{pK} = 10,2$).

- ni glyoxylate 11_b : pas de vague cathodique de $E^{1/2} = -1,45$ V.

- ni sulfure : pas de vague anodique de $E^{1/2} = -0,80$ V, ni d'acidité correspondante ($\text{pK} \approx 7,0$).

Par contre, on observe une vague anodique de $E^{1/2} = -0,52$ V (1 F) et une acidité de $\text{pK} = 9,2$ (rapportée à une mole de 9_c initiale). Toutefois, ces deux propriétés, ainsi que la bande observée à 315 nm, ne sont que momentanées : elles correspondent à un stade intermédiaire Y qui n'avait pas encore été décrit, à notre connaissance.

3°) Etude du stade intermédiaire Y

Après évolution en milieu alcalin, Y est isolé par extraction à l'éther de la solution acidifiée. (Voir partie expérimentale).

D'une part, le produit isolé n'est pas réductible en milieu acide à l'électrode de mercure, ce qui implique la rupture de la liaison $-S-S-$. D'autre part, la vague anodique de 1 F en milieu alcalin et l'acidité de $\text{pK} = 9,2$ (un équivalent) semblent indiquer que le degré de condensation de 9_a est conservé, ce qui a été confirmé par titrage

cryoscopique (voir partie expérimentale, figure 21).

Le titrage cryoscopique montre que la molécule étudiée Y présente un degré de condensation égal à deux (par rapport à une masse molaire de 90) ; et qu'elle renferme trois acidités.

La formule brute $C_4H_6O_4S_2$ est confirmée par l'analyse et sera développée plus loin.

4°) Evolution à 25°C, du produit intermédiaire Y^{3-} en milieu alcalin

Par vieillissement, le produit correspondant au stade intermédiaire Y^{3-} évolue :

- la bande d'absorption dans l'ultra-violet se déplace de 315 à 335 nm.

- l'intensité de la vague anodique observée en milieu alcalin croît jusqu'à correspondre à 1,6 F.

- l'acidité de $pK = 9,2$ disparaît au profit de deux acidités qui l'encadrent l'une de $pK = 8,2$, l'autre de $pK = 10,2$.

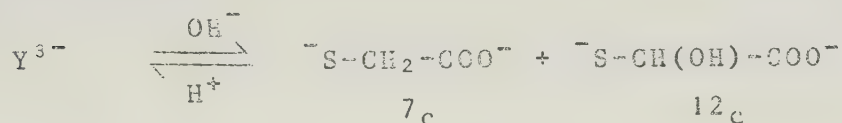
Une coupure du produit Y^{3-} en thioglycolate $^-S-CH_2-COO^-$ 7_c et thioglyoxylate $^-S-CH(OH)-COO^-$ 12_c pourrait rendre compte de cette évolution. L'ion thiolate du thioglyoxylate proviendrait de l'ionisation du thiol consécutif à l'hydratation de la thione :



Cette hypothèse semble justifiée puisque le thio-glyoxylate présente une bande d'absorption à 335 nm et que le thioglycolate possède une acidité de $pK = 10,2$.

Dans ces conditions, l'acidité de $pK = 8,2$ pourrait être attribuée au thioglyoxylate.

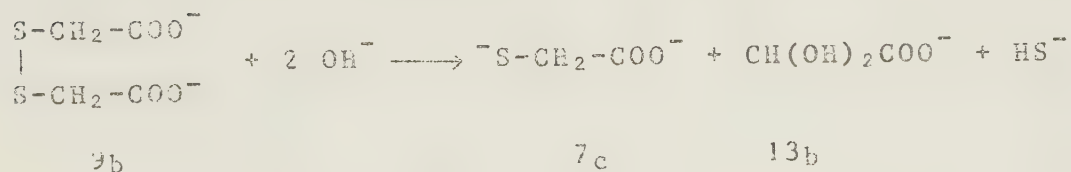
Il importe de constater que l'évolution de Y^{3-} peut être inversée comme le montre la potentiométrie : une solution évoluée de Y^{3-} redonne après un temps suffisant à $pH \approx 2,0$ (surtout si l'on chauffe) l'acidité de $pK = 9,2$ et la bande observée à 315 nm pour $pH \approx 13$. L'ensemble de ces résultats est compatible avec la réaction réversible :



5° Dégradation désulfurante.

Elle intervient dans les mêmes conditions de pH que précédemment, mais à température plus élevée : 60°C . On observe pour une mole d'acide dithiodiacétique initiale l'apparition de :

- une mole de thioglycolate 7_c , une mole de glyoxylate 13_b et une mole d'hydrogénosulfure ; la réaction globale devient alors conforme au schéma (40) :



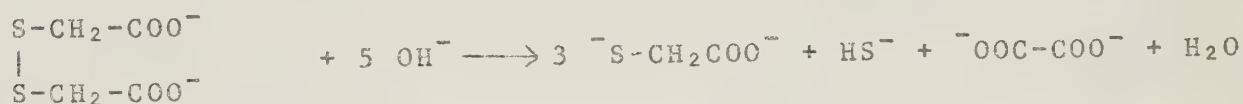
Elle peut être suivie très aisément par polarographie en milieu alcalin ; en effet, 7_c donne une vague

anodique ($E^{1/2} = -0,56$ V, 1 F) distincte de celle de l'hydrogénosulfure ($E^{1/2} = -0,80$ V, 2 F), tandis que 13_b donne une vague cathodique ($E^{1/2} = -1,45$ V, 1 F) qui permet le dosage du glyoxylate.

Si le chauffage n'est pas trop prolongé, on observe intermédiairement une vague cathodique ($E^{1/2} = -1,02$ V) due probablement au thioglyoxylate.

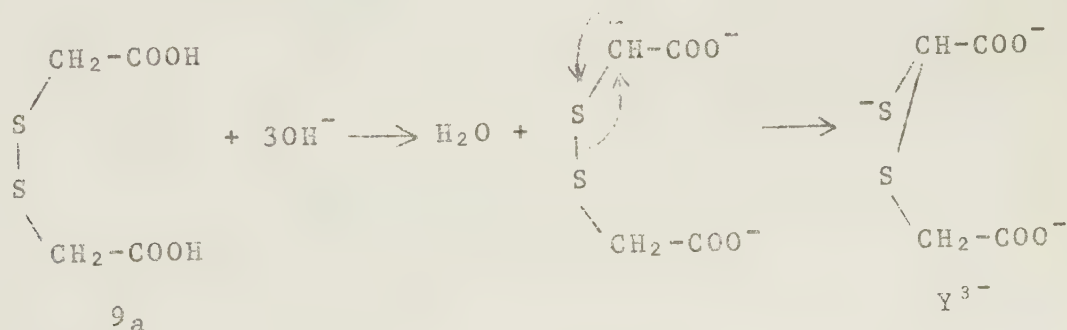
Par potentiométrie, on peut également doser : 7_c et l'hydrogénosulfure, recueilli dans un piège à boules contenant une solution alcaline, après avoir été chassé par acidification des solutions évoluées.

Contrairement à DANEHY et KREUZ (35), à aucun moment, on n'a constaté la présence d'oxalate qui apparaîtrait dans la solution si le mécanisme qu'ils proposaient était vérifié :



6°) Conclusion

Dans les conditions décrites (en milieu alcalin et à 25°C), la transposition suivante serait à l'origine du produit intermédiaire Y^{3-} :



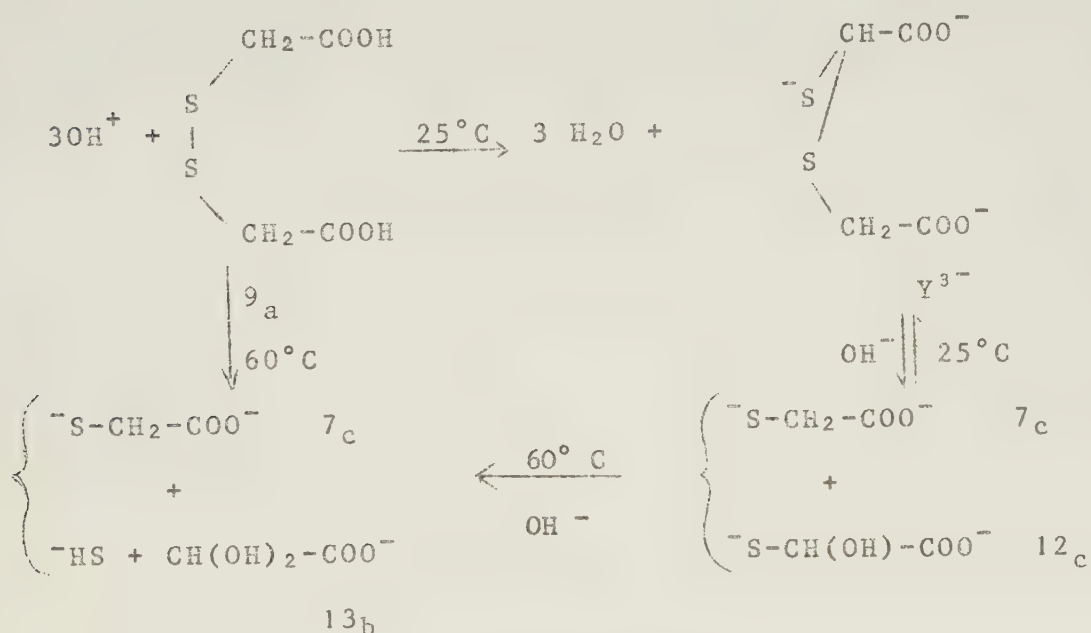
Y^{3-} est équivalent à la forme tri-ionisée de l'hémimercaptal (acide 2-mercapto 3-thiaglutarique) formé par les acides thioglycolique et thioglyoxylique :



En milieu alcalin, l'hémimercaptal instable redonne thioglyoxylate et thioglycolate, il est régénéré par acidification. Un des carboxyles est un acide fort (voir cryoscopie), l'autre, plus faible est visible par potentiométrie $pK_2 = 3,60$.

Le groupement SH est responsable de la vague anodique ($E^{1/2} = -0,52$ V et 1 F) et de l'acidité observée $pK_3 = 9,2$.

Le tableau VIII résume l'ensemble des transformations que nous avons observées et qui sont citées par DANEHY et ELIA (42).



TABEAU VIII

PARTIE EXPERIMENTALE

APPAREILS UTILISES

Les spectres ultra-violetes ont été enregistrés sur un spectrophotomètre UNICAM SP 800 B.

Les polarogrammes ont été tracés à la fois sur un polarographe RADIOMETER PO 4 à deux électrodes et sur un polarographe TACUSSEL à trois électrodes. Les caractéristiques des capillaires utilisés sont les suivantes :

- polarographe Radiometer : $m = 8,78 \text{ mg}$; $\tau = 3,8 \text{ S}$
(-0,5 V dans HCl 0,1 N ; hauteur de la colonne de mercure : 55 cm).

$$m^{2/3} \quad \tau^{1/6} = 5,3$$

- polarographe Tacussel : $m = 6,4 \text{ mg}$; $\tau = 3,0 \text{ S}$
(0,5 V dans HCl 0,1 N ; hauteur de la colonne de mercure : 55 cm).

$$m^{2/3} \quad \tau^{1/6} = 4,15$$

Le montage pour les électrolyses à potentiel fixé est classique, à trois électrodes ; les compartiments anodiques et cathodiques sont concentriques et séparés par un vase poreux. La source de tension est constituée par un potentiostat TACUSSEL PRT 20/2 ; un intégrateur de courant TACUSSEL 1 G 3/1 A et un milliampèremètre sont incorporés au circuit d'électrolyse.

La voltamétrie cyclique a été effectuée sur un polarographe oscillographique à balayage triangulaire comprenant en particulier : un potentiostat TACUSSEL type PRT 30.01 un générateur à 3 segments TACUSSEL type TP, PRT ; un amplificateur différentiel TACUSSEL, type ADTP et oscilloscope TEKTRONIX type R 564 B.

PREMIERE PARTIE

I - PREPARATION DE L'ACIDE β MERCAPTOPYRUVIQUE ET DE SES SELS D'AMMONIUM ET DE SODIUM.

L'acide β mercaptopyruvique est obtenu à partir du β mercaptopyruvate d'ammonium préparé selon la méthode de KUN.

On dispose en série quatre flacons. Le premier et le troisième sont des flacons de garde, le quatrième contient de la soude 5 N. Dans le deuxième 100 cm³ d'ammoniac (28°B, 15 N) sont refroidis par un bain de glace. Un courant de sulfure d'hydrogène circule dans ces flacons de telle sorte qu'il pénètre dans le flacon n° 2 par un capillaire et qu'il ne puisse sortir du flacon n° 4 servant de piège, et ceci pendant une durée de six heures.

Tout en maintenant la température au-dessous de 6°C, on introduit progressivement, par petites quantités, 23 g d'acide bromopyruvique (produit FLUKA) dans le flacon n° 2. L'addition dure plus d'une heure, la circulation de sulfure d'hydrogène étant maintenue constante et une agitation lente par barreau aimanté étant utilisée.

Le contenu du flacon n° 2 est alors versé dans 800 cm³ d'éthanol. On recueille un abondant précipité qui est redissous dans le minimum d'eau ; la fraction la plus difficilement soluble est éliminée par filtration. Le filtrat est alors versé dans 1600 cm³ d'alcool. L'ensemble est laissé 24 heures au réfrigérateur à 4°C. Un précipité microcristallin apparaît lentement. Après filtration, lavage à l'alcool puis à l'éther éthyliques, séchage sous vide phosphorique pendant 24 heures, on recueille un produit

cristallisé blanc dont l'analyse correspond à la formule
 $\text{CH}_2\text{SH}-\text{CO}-\text{CO}_2\text{NH}_4$ ($M = 137$).

Calculé pour $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3\text{NS}$ % : C = 26,2 ; H = 5,11 ; N = 10,2 ; S = 23,3

Trouvé % : C = 26,1 ; H = 5,35 ; N = 10,3 ; S = 23,2

Le β mercaptopyruvate de sodium est obtenu par échange de cations sur résine DOWEX-50, sous forme Na^+ .

L'acide β mercaptopyruvique lui-même est préparé également par résine échangeuse d'ions DOWEX-50, sous forme H^+ . La solution aqueuse de l'acide ainsi obtenu est placée dans un évaporateur rotatif sous vide, thermostaté à 40°C . Le produit solide obtenu correspond à la formule $\text{CH}_2\text{SH}-\text{C}(\text{OH})_2-\text{CO}_2\text{H}$.

Calculé pour $\text{C}_3\text{H}_4\text{OS}$, H_2O % : C = 26,1 ; H = 4,25 ; S = 23,2

Trouvé % : C = 26,2 ; H = 4,36 ; S = 22,9

La masse molaire ($M = 138$) est confirmée par le titrage potentiométrique de l'acidité de la fonction thiol ($\text{pK} = 9,3$ pour $\mu = 0,2$).

II - ETUDE DE LA TRANSFORMATION $2_b + \text{OH}^- \longrightarrow 3_c + \text{H}_2\text{O}$
(ou $2_a + 2 \text{OH}^- \longrightarrow 3_c + 2 \text{H}_2\text{O}$)

1°) Alcalinisation de l'acide β mercaptopyruvique 2_a

On dissout 0,1 millimole de 2_a ($M = 138$) dans 10 cm^3 d'eau désoxygénée par barbotage à l'azote : solution A.

Dans 40 cm^3 de soude N/40, on dissout 0,29 g de NaCl : solution B également désoxygénée.

Les deux solutions sont maintenues à 25°C.

On alcalinise la solution A en la versant brusquement dans la solution B. Après mélange, le pH de la solution est de 12,2 pour $\mu = 0,1$.

Le graphe de $\log (\epsilon_{\infty} - \epsilon_t)$ à 292 nm en fonction du temps est bien une droite dont la pente demeure inchangée si la molarité de l'acide β mercaptopyruvique est multipliée par cinq. La réaction est donc d'ordre un par rapport à 2_a .

Trouvé : $k = 0,27 \text{ mn}^{-1}$ à 25°C.

TABLEAU IX

$t^{\circ}\text{C}$	10	25	40
$\frac{10^3}{T}$	3,53	3,36	3,19
$10^2 k \text{ mn}^{-1}$	9	27	76
$2 + \log K$	0,955	1,43	1,88

Les valeurs du tableau IX ont été obtenues en faisant varier la température, μ étant maintenu constant.

L'énergie d'activation a été calculée en portant $\log k$ en fonction de $1/T$; la pente de la droite obtenue (figure 19) donne ΔE .

$$E = 12,4 \text{ kcal mole}^{-1} ; A = 3,6 \cdot 10^8 \text{ mn}^{-1}$$

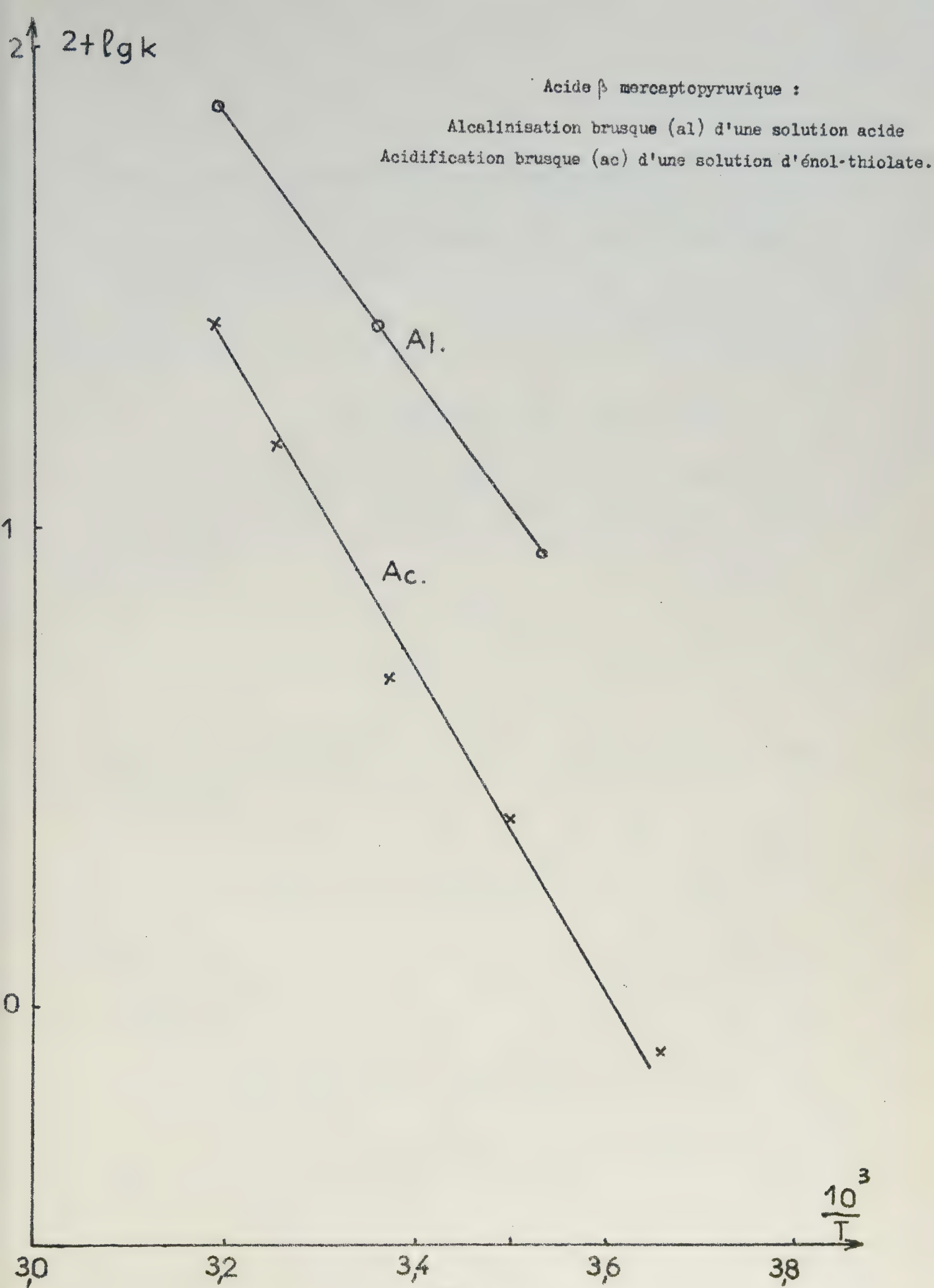


Fig.19.

Détermination du spectre U.V. de l'épisulfide 4

On introduit directement, et dans l'ordre, dans une cuve spectrophotométrique :

- 1 cm³ d'une solution 10⁻² M en acide chlorhydrique et 10⁻³ M en 2_a

- 1 cm³ d'une solution 2.10⁻² M en NaOH .

Tous les réactifs étant à 10°C et le compartiment cuve étant lui-même thermostaté à cette température, les valeurs ont été obtenues par extrapolation à t = 0.

λ _{nm}	270	275	280	285	290	295	300
ε	1410	1510	1635	1670	1600	1535	1430

2°) Acidification à pH < 2,5 d'une solution d'énol THIOLATE 3_c

On dissout 0,25 millimole de 2_b (sel d'ammonium, M = 137) dans 10 cm³ d'une solution de soude 0,3 N désoxygénée au préalable par barbotage à l'azote : solution A.

Dans 40 cm³ d'acide chlorhydrique N/5, on dissout 2,6 g de chlorure de sodium : solution B également désoxygénée.

Les deux solutions sont maintenues à 24°C.

On acidifie la solution A en la versant brusquement dans la solution B : après le mélange, le pH de la solution est de 0,95 pour μ = 1.

Le graphe de $\log (\epsilon_{\infty} - \epsilon_t)$ à 270 nm en fonction du temps est bien une droite dont la pente demeure inchangée si la molarité initiale en 3_c est multipliée par cinq, ce qui justifie l'ordre un de la réaction par rapport à $\text{CHSH}=\text{C}(\text{OH})-\text{COOH}$ (3_a).

Trouvé : $k = 6,6 \cdot 10^{-2} \text{ mn}^{-1}$ à 24°C pour $\text{pH} = 0,95$ et $\mu = 1$.

Les valeurs du tableau II ont été obtenues en faisant varier l'acidité de la solution B, μ étant maintenu constant.

Influence de la force ionique

D'autres études cinétiques ont été faites, toujours à 24°C , dans les mêmes conditions que précédemment, à la seule exception près que la force ionique était ajustée à 0,1 .

pH	1,06	1,50	1,80	2,15	2,25
$10^2 k$	5,3	7,5	10,2	22	30

TABEAU X

Influence de la température

A pH 0,75 et à $\mu = 0,2$ une étude de la variation de k en fonction de la température a été réalisée : les valeurs suivantes ont été obtenues :

t °C	0	13	24	35	40
$\frac{10^3}{T}$	3,66	3,50	3,37	3,25	3,19
$10^2 k \text{ mn}^{-1}$	0,83	2,5	4,8	15	27
2 + lg k	-0,88	0,40	0,68	1,175	1,43

TABLERAU XI

La pente de la droite obtenue en portant log k en fonction de 1/T permet de calculer (figure 19) :

$$E = 15,5 \text{ kcal mole}^{-1} ; A = 15 \cdot 10^{10} \text{ mn}^{-1}$$

Calcul du pK_a de l'acide énoi 3_a

On applique la relation :

$$\frac{k'}{k''} = \frac{K_a + [H_3O^+]''}{K_a + [H_3O^+]'}$$

avec par exemple, les valeurs : pH' = 1,75 $\Rightarrow$ k' = 15,7
pH'' = 1,60 $\Rightarrow$ k'' = 14

$$\frac{15,7}{14} = \frac{K_a + 10^{-1,60}}{K_a + 10^{-1,75}} \qquad 1,12 = \frac{K_a + 0,0252}{K_a + 0,0178}$$

$$K_a = \frac{0,0252 - 0,0178 \times 1,12}{0,12} = \frac{0,0252 - 0,0199}{0,12}$$

$$K_a = \frac{0,0053}{0,12} = 0,044$$

on obtient $pK_a = 1,35$

Remarque importante

L'hypothèse tendant à considérer $k_1(1-\alpha)$ comme négligeable devant k_2 α se trouve vérifiée pour des pH supérieurs au pK_a . En effet, puisque l'on a :

$$k = k_1 + (k_2 - k_1)\alpha \text{ avec } k_2 > k_1,$$

k doit croître avec α , c'est à dire avec le pH, ce qui est bien vérifié par l'expérience.

III - PREPARATIONS DE SELS DE PLOMB

1°) 2 Mercaptolactate de plomb

Après réduction ($E = -1,05$ V) par 2 F, en milieu acétique pH 3,6 d'une solution 2.10^{-2} en β mercaptopyruvate (2b), l'addition d'acétate de plomb entraîne la précipitation d'un sel qui est filtré, lavé, séché 24 heures sous vide phosphorique. L'analyse correspond à la formule brute $Pb C_6H_{10}O_6S_2, 6 H_2O$.

Calculé % : Pb = 37,1 ; C = 12,90 ; H = 3,95 ; S = 11,45

Trouvé % : Pb = 37,5 ; C = 12,65 ; H = 3,25 ; S = 11,36

Les solutions d'acide β mercaptolactique (et son ion) obtenues après redécomposition du sel de plomb en milieu nitrique par le sulfure d'hydrogène, présentent les manifestations d'un thiol :

Spectre U.V. : $\epsilon = 3500$ à 230 nm

Vague anodique : $-0,60 \text{ V}$ à $\text{pH } 13$

Pouvoir réducteur vis à vis de l'iode (1 équivalent).

2°) Préparation du parapyruvate de plomb

5 mmoles de $2b$ sont réduites dans 200 ml de soude $0,2 \text{ N}$ à 50°C ($E = -1,70 \text{ V}$). Après passage de 1060 coulombs, la bande d'absorption due à $2b$ a totalement disparu ; par contre on observe une forte absorption ($\epsilon = 6500$) à 230 nm ; cette bande disparaît totalement après acidification et dégazage abondant de la solution ; elle est donc attribuable au sulfure présent dans la solution.

La solution acidifiée par l'acide acétique glacial, additionnée d'acétate de plomb, précipite abondamment. L'analyse du produit recueilli s'accorde avec la formule brute $\text{Pb C}_6\text{H}_6\text{O}_6, 6 \text{ H}_2\text{O}$.

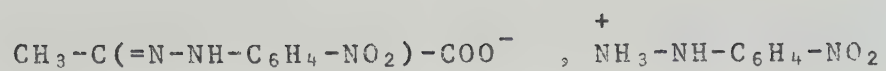
Calculé pour $\text{Pb C}_6\text{H}_6\text{O}_6$ % : $\text{Pb} = 42,3$; $\text{C} = 14,75$; $\text{H} = 3,66$

Trouvé % : $\text{Pb} = 42$; $\text{C} = 14,80$; $\text{H} = 3,80$

Formation du sel de p nitro-phénylhydrazonium de la p nitro-phénylhydrazine.

A la solution réduite dans les conditions décrites ci-dessus on ajoute 10 millimoles de p nitrophénylhydrazine, dissoutes dans 300 cm^3 d'éthanol.

Après 16 heures d'évolution, l'alcool est chassé sous vide à 35°C . La solution est alors abandonnée pendant 48 heures ; il apparaît progressivement des cristaux dont l'analyse correspond à la formule :



Calculé pour $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{N}_6$ % : C = 47,80 ; H = 4,30 ; N = 22,30

Trouvé % : C = 47,80 ; H = 5,20 ; N = 22,35

DEUXIEME PARTIE

I - ISOLEMENT D'UN MERCAPTIDE INSOLUBLE

Après oxydation ($E = + 0,05 \text{ V}$) en milieu acétique (pH 4,9) la solution est acidifiée à pH 2,0 par l'acide chlorhydrique. Le mercaptide insoluble est filtré, lavé à l'eau, l'alcool et l'éther éthyliques, séché sous vide phosphorique pendant 24 heures. L'analyse correspond à la formule brute $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_4\text{S Hg}$.

Calculé pour % : C = 10,70 ; H = 1,48 ; S = 9,50 ; Hg = 61,5

Trouvé % : C = 10,71 ; H = 1,85 ; S = 9,24 ; Hg = 60

Le mercure a été dosé par une méthode spectrophotométrique basée sur l'absorption du complexe HgI_4^{2-} dans NaI M (43) : un échantillon de 17 mg de mercaptide est attaqué par le minimum de mélange sulfonitrique. Diluer à 50 ml ($C = 10^{-3} \text{ M}$). Une prise d'essai de 10 cm^3 est neutralisée par de la soude N. Ajouter 50 cm^3 d'une solution (NaI 2 M + Na_2SO_3 5 %). Compléter à 100 cm^3 .

Préparer d'autre part, une solution $\text{HgO } 10^{-3} \text{ M}$ dans l'acide perchlorique dilué. Comparer les densités optiques à 322 nm.

II - ISOLEMENT D'UN SEL DE PLOMB APRES OXYDATION EN MILIEU ALCALIN.

Après oxydation en milieu NaOH 0,2 N ($E = -0,30 \text{ V}$) par 2 F, la solution est filtrée pour éliminer un précipité très ténu, qui a été identifié au sulfure de mercure (rendement < 20 %), puis acidifiée à pH 4,0 par addition

d'acide acétique glacial.

Après dégazage abondant pour chasser le CO_2 , la solution précipite quand on ajoute de l'acétate de plomb, le pH étant ajusté vers 5,5. L'analyse du sel recueilli, lavé et séché 24 heures sous vide phosphorique donne la formule $\text{Pb C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{S}_2$.

Calculé pour $\text{Pb C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{S}_2$ % : C=12,33 ; H=1,54 ; S=16,45 ; Pb=53,2

Trouvé % : C=12,35 ; H=1,92 ; S=16,50 ; Pb=52

Le plomb a été dosé par polarographie, après dissolution en milieu nitrique M et dilution à un taux convenable dans un électrolyte support HNO_3 M, KNO_3 0,1 M.

III - PREPARATION D'UN SEL DE SODIUM BICONDENSE

20 millimoles de β mercaptopyruvate de sodium (2b) sont dissoutes dans 200 cm^3 de tampon carbonate 0,3 M pH 10,60. Après avoir laissé évoluer pendant 20 heures à 20°C, on acidifie par de l'acide iodhydrique et chasse le dioxyde de carbone par un barbotage prolongé à l'azote. La solution est concentrée sous vide à environ 10 cm^3 , neutralisée à la soude et additionnée de 150 cm^3 d'alcool éthylique. Un solide blanc cristallisé précipite ; il est filtré, lavé à l'alcool et à l'éther éthyliques, puis séché sous vide phosphorique pendant 24 heures. Il se décompose avant de fondre. L'analyse s'accorde avec la formule brute $\text{Na C}_3\text{H}_3\text{O}_3\text{S}$.

Calculé % : Na=16,20 ; C=25,33 ; H=2,11 ; S=22,52

Trouvé % : Na=16,40 ; C=25,08 ; H=2,14 ; S=22,05

IV - TITRAGE CRYOSCOPIQUE DANS Na_2SO_4 , 10 H_2O

On prépare 50 cm^3 de solution 0,2 M de sel de sodium précédemment isolé, en lui attribuant la formule $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6\text{S}_2$ ($M = 284$) et on titre par NaOH 5 N au point de transition de Na_2SO_4 , 10 H_2O après addition de 50 g de Na_2SO_4 anhydre. Le titrage en retour est effectué avec H_2SO_4 5N (figure 10).

V - DETERMINATION DU NOMBRE DE FARADAYS INTERVENANT AU COURS D'UNE ELECTROLYSE ANODIQUE SUR NAPPE DE MERCURE

Les valeurs expérimentales portées sur la figure 6 ont été obtenues avec une solution NaOH N, 0,02 M en β mercaptopyruvate ; $t = 20^\circ\text{C}$; $E = -0,30$ V.e.c.s.

La vitesse d'agitation étant maintenue constante, on applique la relation (6)

$$n = \frac{i_0 t}{2,3 F C_0 V \log \frac{i_0}{i_t}}$$

dans laquelle i_0 désigne la valeur initiale du courant déterminé par extrapolation, t le temps, C_0V le nombre de moles électrolysées, i_t l'intensité au temps t , et F la valeur du Faraday : 96 500 C.

$$t_0 \quad \Rightarrow \quad \log i_0 = 1,95$$

$$t = 1500 \text{ s} \Rightarrow \log i_t = 1,65$$

$$n = \frac{92.10^{-3} \times 1500}{2,2 \times 96500 \times 2.10^{-3} \times 0,30} = 1,03$$

VI - ETUDE DE LA CINETIQUE DE LA BICONDENSATION

pH > 10,40

Des mesures ont été effectuées pour des concentrations initiales de β mercaptopyruvate ($2b$) variant entre 10^{-2} et 5.10^{-2} M. Le mode opératoire suivant correspond à une concentration 10^{-2} M en $2b$.

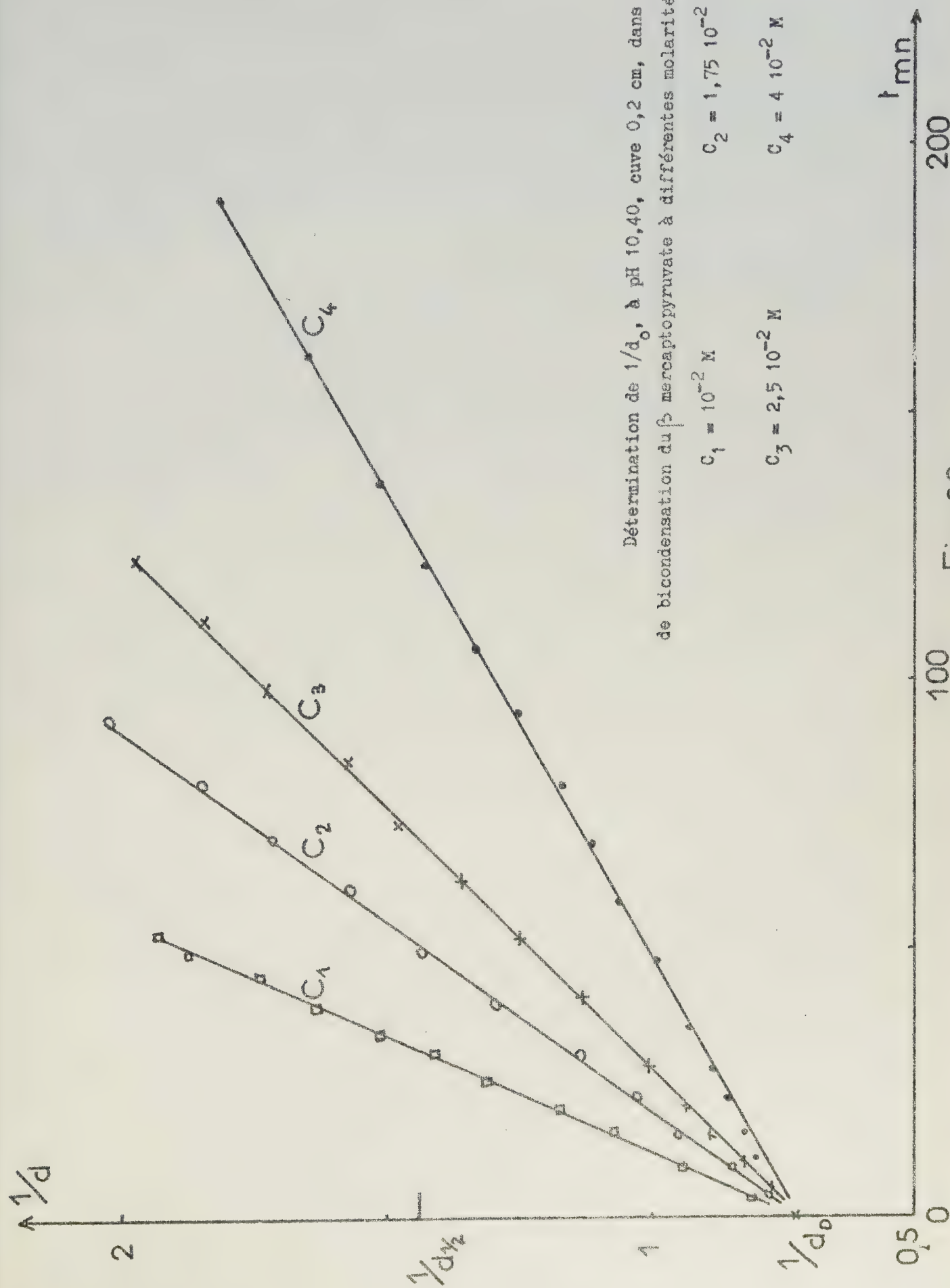
0,5 millimole de $2b$ est dissoute dans 50 cm^3 d'une solution de carbonate M ajusté à pH 10,40 (ou 10,67). La solution, 10^{-2} M en $2b$ est maintenue à température constante 20°C , et sous atmosphère inerte par barbotage d'azote.

La réaction est suivie par spectrophotométrie ultra-violette après dilution au dixième dans le tampon carbonate. Le temps t est noté au moment de la dilution. La densité optique est mesurée à 292 nm, avec une cuve de 0,2 cm. Après estimation de d_0 par extrapolation, on peut, pour chaque valeur de t calculer $1/c$, dans les conditions d'application de la loi de BEER-LAMBERT.

On trouve qu'il existe une relation linéaire entre $1/c$ et t ; la réaction de condensation est donc d'ordre deux par rapport à $2b$; la pente de la droite permet de calculer $k = 0,80\text{ l mole}^{-1}\text{ mn}^{-1}$.

Remarque :

La valeur de d_0 est obtenue en portant les valeurs expérimentales de $1/d$ en fonction du temps, pour différentes concentrations (figure 20) ; on obtient un faisceau de droites convergentes au point $1/d_0$.



Détermination de $1/d_0$, à pH 10,40, cuve 0,2 cm, dans la réaction de bicondensation du β mercaptopyruvate à différentes molarités :

Fig.20.

pH = 9,40

0,5 millimole de 2_b est dissoute dans 50 ml d'une solution de carbonate M ajustée à pH 9,40 ; la solution 10^{-2} M en 2_b est maintenue à température constante (20°C) et sous atmosphère inerte par barbotage d'azote.

La réaction est suivie par spectrophotométrie ultra-violettre après dilution au dixième dans le tampon carbonate pH 9,40.

La densité est mesurée à 292 nm, avec une cuve de 0,2 cm, la valeur de d_0 étant évaluée par extrapolation on trouve qu'il existe une relation linéaire entre $\log_{10}(d_0/d_t)$ et t . Comme d'autre part, la pente de la droite obtenue ne varie pas quand c_0 passe de 10^{-2} à $4 \cdot 10^{-2}$ M, on en déduit que la réaction de condensation à pH 9,4 est d'ordre un par rapport à 2_b : $k = 3,35 \cdot 10^{-2} \text{mn}^{-1}$.

TROISIEME PARTIE

I - PREPARATION DE LA DISEMICARBAZONE 5' DE L'ACIDE DITHIO-DIPYRUVIQUE

5 millimoles d'acide dithiodipyruvique sont dissoutes dans 50 cm³ d'une solution aqueuse contenant 10 millimoles d'acétate de sodium et 25 millimoles de chlorure de semicarbazonium. La disemicarbazone précipite. On filtre le précipité, lave à l'alcool et l'éther éthyliques, sèche 24 heures sous vide phosphorique.

	C	H	S	N
Calculé pour C ₈ H ₁₂ O ₆ S ₂ N ₆ , 4 H ₂ O %	22,60	4,72	15,10	19,85
Trouvé	% 22,54	4,49	14,92	20,09

On peut également préparer la disemicarbazone 5' en dissolvant 10 millimoles d'acétate de sodium et 25 millimoles de chlorure de semicarbazonium dans 50 cm³ de solution contenant : 10 millimoles d'acide β mercaptopyruvique (ou de β mercaptopyruvate d'ammonium) oxydées au préalable par 10 cm³ d'iode normal.

II - PREPARATION DE L'ACIDE DITHIODIPYRUVIQUE

10 millimoles d'acide β mercaptopyruvique 2a sont dissoutes dans 30 cm³ d'eau. On y ajoute 5 millimoles d'iode solide, finement broyé. La fin de l'oxydation de 2a est repérée par l'absence de coloration avec l'empois d'amidon. L'acide dithiodipyruvique est alors extrait rapidement par 250 cm³ d'éther, utilisé en trois fois. On sèche la solution étherée sur sulfate de sodium pur, sec. Après filtration, on chasse l'éther et maintient au moins 24 heures sous vide phosphorique.

		C	H	S
Calculé pour $C_6H_6O_6S_2, 2 H_2O$	%	26,27	3,65	23,35
Trouvé	%	26,35	3,82	23,19

III - PREPARATION DE L'ESTER METHYLIQUE DE L'ACIDE DITHIO-DIPYRUVIQUE.

On procède conformément à l'équation chimique :



Le diazométhane est obtenu selon le mode opératoire proposé par Th. de BOER et H.J. BACKER (25) pour réaliser la réaction dont l'équation est :



On travaille sur 0,1 mole de diazald (produit ALDRICH) dissous dans 125 cm³ d'éther et réagissant avec 35 cm³ de carbitol (C₂H₅OCH₂CH₂OCH₂CH₂OH produit PROLABO) mélangés à 10 cm³ d'eau, 10cm³ d'éther, et 6 g de potasse en pastilles.

Le distillat recueilli est une solution de diazométhane dans l'éther que l'on refroidit dans un mélange acétone-carboglance.

On procède ensuite, à l'estérification, selon un montage qui comporte dans un ordre ascendant :

- un erlenmeyer A contenant 5,44 g de

$(-S-CH_2-CO-COOH)_2$, 2 H_2O , dans 100 cm^3 d'éther et placé dans un bain eau-glace.

- une ampoule B contenant 30 cm^3 de la solution de diazométhane dans l'éther préparée plus haut et dont un prélèvement a été dosé par l'acide benzoïque (le dosage a montré que la solution utilisée était 0,25 M en CH_2N_2). Un robinet rodé permet de verser goutte à goutte cette solution dans l'erlenmeyer ; un tube latéral établit l'équilibre entre les pressions de vapeur en A et B.

- un manchon réfrigérant qui contient un mélange acétone carboglace et qui est ouvert à l'air libre dans sa partie supérieure.

On évapore sous vide la solution étherée de l'ester connu.

	C	H	S
Calculé pour $C_8H_{10}O_6S_2$, H_2O %	33,80	4,23	22,50
Trouvé	% 34,03	4,32	22,76

IV - REDUCTION A POTENTIEL FIXE SUR NAPPE DE MERCURE DE L'ACIDE DITHIODIACETIQUE.

Dans 120 cm^3 de tampon acétique (0,25 M, $pH \approx 5,0$) on dissout 1,2 millimole d'acide dithiodiacétique. Avec la tension choisie, -1,30 V/ECS, on enregistre un courant initial du 135 mA. Les prises d'essai effectuées au cours de l'électrolyse et diluées au vingtième dans la soude N/5 permettent de suivre l'apparition de la vague anodique du thiol formé. Les polarogrammes doivent être enregistrés rapidement, car une évolution spontanée se produit en milieu alcalin. Elle permet néanmoins d'effectuer les mesures.

Par titrage potentiométrique, on trouve, compte tenu des prélèvements effectués, 2,4 millimoles d'acide thioacétique de $pK_2 = 10,2$. On peut également doser le thiol, en le réoxydant en acide dithiodiacétique par une quantité stoechiométrique d'iode.

V - ETUDE CINETIQUE DE LA FORMATION DE L'HEMIMERCAPTAL PAR DEGRADATION DU DITHIODIACETATE, EN MILIEU ALCALIN.

A 40 cm³ d'une solution aqueuse contenant deux millimoles d'acide thioacétique préalablement oxydé par l'iode N/10, sont ajoutés 60 cm³ d'une solution de soude (32 cm³ de NaOH N et 28 cm³ d'eau). L'étude est faite à 25°C par spectrophotométrie ultra-violette, en suivant l'évolution de la bande apparaissant à 315 nm.

La solution est 10⁻² M par rapport à l'acide dithiodiacétique.

La réaction est d'ordre un car $\lg (d_{\infty} - d_t) = k't$.

On remarquera que l'absorption maximale observée pratiquement à $t = 7$ mn, persiste jusqu'à $t = 10$ mn. Au-delà l'absorption décroît en même temps que la longueur d'onde croît.

La constante de vitesse k est évaluée à : 0,47 mn⁻¹.

VI - ISOLEMENT DE L'HEMIMERCAPTAL

On désoxygène séparément par barbotage à l'azote :

- 200 cm³ de solution A (soude 4 N),

- 200 cm³ d'une solution B contenant 200 millimoles d'acide dithiodiacétique.

La solution B est versée dans la solution A et l'ensemble est maintenu à 25°C. Au bout de 20 minutes, on acidifie à pH 2,0 et extrait à l'éther. Un solide blanc (F = 91° C) cristallise par évaporation.

L'important est d'atteindre au moins le stade de la transformation complète et irréversible de l'acide dithiodiacétique en hémimercaptal. En effet, même si celui-ci est partiellement décomposé en acides thioacétique et thioglyoxylique, il réapparaît totalement après l'acidification nécessaire à l'extraction à l'éther.

Il ne faut pas chauffer la solution sinon l'acide thioglyoxylique se désulfurerait.

Analyse de l'hémimercaptal

L'analyse s'accorde sur la formule brute (C₂H₃O₂S)_n

	C	H	S
Calculé % :	26,40	3,30	35,10
Trouvé % :	26,44	3,89	35,53

VII - ETUDE CRYOSCOPIQUE DANS LE SULFATE DE SODIUM DECAHYDRATE (figure 21)

On prépare 50 cm³ de solution 0,2 M en attribuant au produit isolé la masse molaire 91 correspondant à C₂H₃O₂S et on titre par la soude 5 N au point de transition du sulfate de sodium décahydraté après addition de 50 g de sulfate de sodium anhydre.

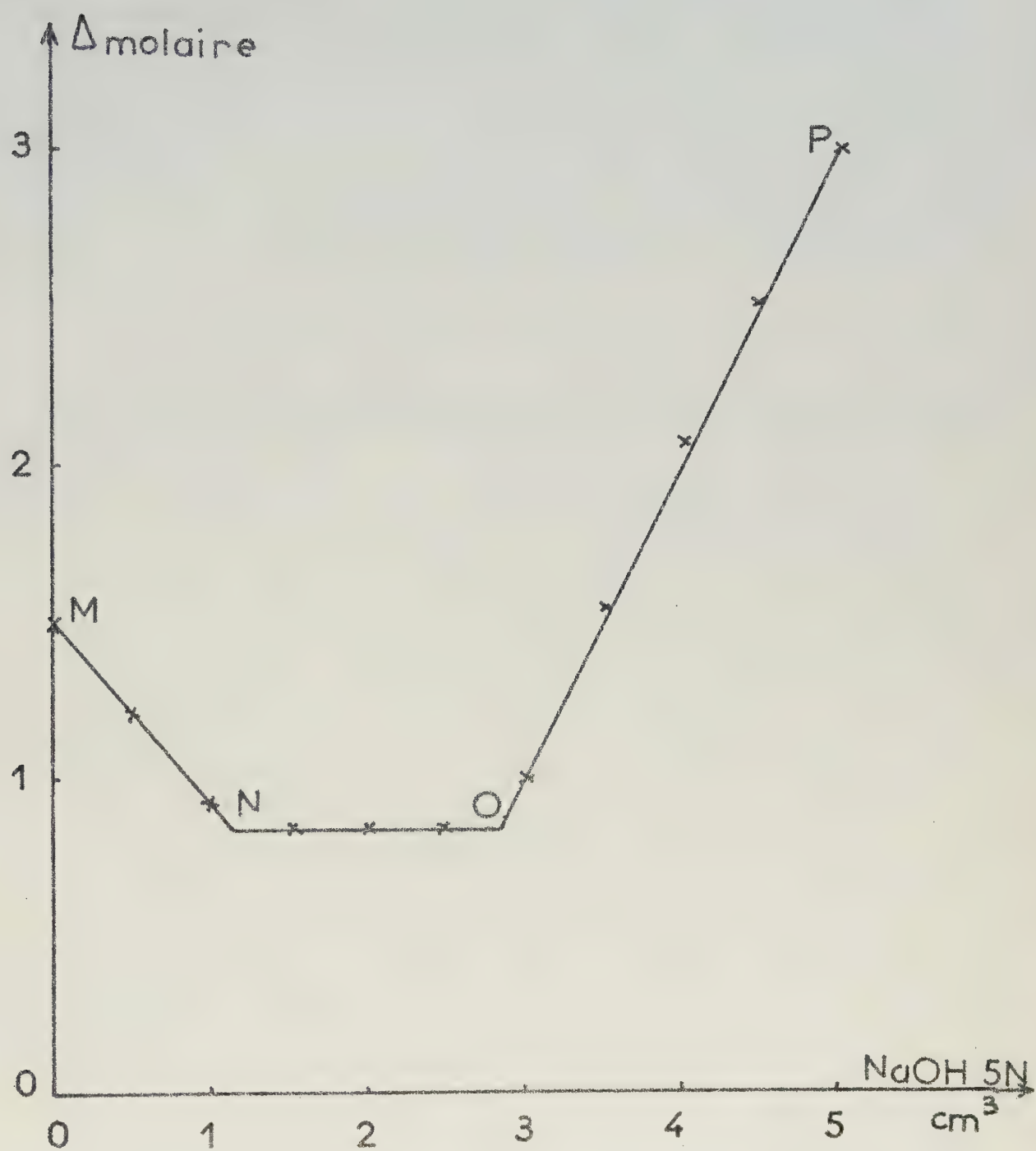


Fig.21.

Titration cryoscopique d'une solution 0,2 M d'acide $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{S}$.

Le premier cm^3 de soude 5 N versé correspond à la neutralisation d'une acidité forte (MN), les deux suivants à deux autres acidités plus faibles (NO), au-delà (OP), l'abaissement observé est lié à l'accroissement de la concentration en OH^- . On note que l'ordonnée du palier NO correspond à un Δ molaire de 0,925. En définitive, le produit isolé présente un degré de condensation égal à deux par rapport à une masse molaire de 91. On a par conséquent la formule brute $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{S}_2$.

VIII - EVOLUTION EN MILIEU ALCALIN A 25°C DE L'HEMIMERCAPITAL

L'évolution de l'hémimercaptal peut être suivie par potentiométrie. Une solution de dithiodiacétate 0,061 M dans la soude 0,6 N est maintenue à 25°C. Des prélèvements de 10 cm^3 sont effectués et titrés par de l'acide chlorhydrique N/10. Chaque dosage dure environ une vingtaine de minutes.

(t)				
(début du dosage)	0	40 mn	2h 45	5h 45
milliéquivalent (acidités de $\text{pK} > 7$)	0,60	0,84	0,94	1,05
milliéquivalent	0,98	1,38	1,54	1,72
millimoles d'acide dithiodiacétique				

Il est à noter, compte tenu de la durée du dosage, que l'acide dithiodiacétique est entièrement transformé en hémimercaptal $\text{HOCO-CH(SH)-S-CH}_2\text{-COOH}$ lors du premier dosage.

Sur cette première solution titrée, conservée sous azote, pendant trois heures, toujours à 25°C et à $\text{pH} \approx 2,0$,

le titrage retour réalisé par la soude N/5 coïncide parfaitement avec le titrage aller.

On peut attribuer à l'hémimercaptal une acidité faible de $pK = 9,2$ et aux carboxyles un pK moyen de 3,5.

En résumé, pour 1 mole d'acide dithiodiacétique, on a donc l'évolution suivante:

(t) début	10 mn	40 mn	2h 45	5h 45
mole d'hémimercaptal ≈ 1		0,62	0,46	0,28
mole d'acides thioacétique ou thio-glyoxylique	0	0,38	0,54	0,72

X - EVOLUTION EN MILIEU ALCALIN DE L'HEMIMERCAPTAL A 35°C PUIS 45°C

Dans les mêmes conditions que précédemment, on observe :

a) à 35°C

(t) début	10 mn	20 mn	45 mn	90 mn	3 h
mole d'hémimercaptal	0,78	0,68	0,61	0,53	0,40
mole d'acides thioacétique ou thioglyoxylique	0,22	0,32	0,39	0,47	0,60

b) à 45°C

(t) début	15 mn	60 mn	2h 30	4h
mole d'hémimercaptal	0,65	0,52	0,49	0,40
mole d'acides thioacé- tique ou thioglyoxylique	0,35	0,48	0,51	0,60

BIBLIOGRAPHIE

- (1) C. FROMAGEOT, E.A. WOOKEY C.R. Acad. Sci. 1939, 209, 1019
et P. CHAIX
- (2) C. FROMAGEOT, E.A. WOOKEY Enzymologia, 1940, 9, 198.
et P. CHAIX
- (3) F. CHATAIGNIER, G. SAURET Bull. Soc. Chim. Biol. 1956,
IGNAZI 38, 415.
- (4) W.D. KUMLER, E. KUN Biochim. Biophys. Acta, 1958,
27, 464.
- (5) P. SOUCHAY, M.B. FLEURY C.R. Acad. Sci. 1965, 260, 2827.
M.B. FLEURY Ibid, 1961, 252, 1472.
- (6) J. PARROD Bull. Soc. Chim., 1947, 25, 109.
- (7) E. KUN Biochim. Biophys. Acta., 1957,
25, 135.
- (8) P. SOUCHAY, J. TOHIER C.R. Acad. Sci. 1966, 262, 193.
M.B. FLEURY
- (9) D. FLEURY Bull. Soc. Chim. France, 1969,
3763.
- (10) J. KUTA C.C.C.C. 1958, 21, 697.
C.C.C.C. 1959, 24, 2532.
Chem. listy 1958, 52, 2267.
- (11) S. ONO, M. TAKAGI et C.C.C.C. 1961, 26, 141.
T. WASA
- (12) J.P. DANEHY Chemistry of organic sulfuric
compounds, Pergamon, 1966, 345.
- (13) J. TOHIER, M.B. FLEURY C.R. Acad. Sci. 1969, 268, 1844.
- (14) E. WALDMANN, V. PREY et Monatshefte für Chemie, 1954,
F. JELINEK 85, 872.
- (15) H. FENTON J. of the Chem. Soc. London,
1905, 87, 808.
- (16) D.B. SPRINSON et E. J. Biol. Chem, 1946, 164, 417.
CHARGAFF
- (17) H. FENTON J. of the Chem. Soc. London,
1912, 101, 1579.
- (18a) I.M. KOLTHOFF et C. J. Am. Chem. Soc. 1940, 62, 3061.
BARNUM
I.M. KOLTHOFF, W. STRICKS J. Am. Chem. Soc. 1955, 77, 5211.
et N. TANAKA
- (18b) G. SARTORI et A. LIBERTI J. Electrochem. Soc. 1950, 97, 20.
- (18c) D.R. LEUSSING et I.M. J. Electrochem. Soc. 1953, 100, 334.
KOLTHOFF

- (19) R.S. SAXENA, K.C. GUPTA J. Ind. Chem. Soc. 1970, 47, 101.
- (20) J. KOUTECKY Coll. Czech. Chem. Comm. 1955, 20, 116.
- (21) J. HEYROVSKY et J. KUTA Principles of polarography, Acad. Press. 1966, 345.
- (22) M.B. FLEURY, J. TOHIER C.R. Acad. Sci. 1967, 264, 693.
- (23) D. FLEURY et M.B. FLEURY C.C.C.C. 1971, 36, 331.
- (24) A. PARKER et N. KHARASCH Chem. Revs. 1959, 59, 596.
- (25) Th. J. de BOER et H.J. BACKER Rec. Trav. Chim. 1954, 73, 229, 583.
- (26a) I.M. KOLTHOFF et C. BARNUM J. Am. Chem. Soc. 1941, 63, 520.
- I.M. KOLTHOFF, W. STRICKS J. Am. Chem. Soc. 1955, 77, 4739.
et N. TANAKA
- (26b) W. STRICKS et I.M. KOLTHOFF J. Am. Chem. Soc. 1952, 74, 4646.
- (27) L.R. RYKLAN et L.A. SCHMIDT Univ. Calif. Publi. Physiol. 1949, 8, 257.
- (28) T.F. LAVINE J. Biol. Chem. 1936, 113, 583.
- (29) G. TOENNIES J. Biol. Chem. 1937-1938, 122, 27.
- (30) M.B. FLEURY, J. MOIROUX Journées d'électrochimie organique, France (Nancy, mai 1971)
- (31) A. SCHOBERL Ann. 1933, 507, 111.
- (32) A. SCHOBERL, E. BERNINGER Ber. 1934, 67 B, 1545.
et F. HARREN
- (33) A. SCHOBERL et H. ECK Ann. 1936, 522, 97.
- (34) A. SCHOBERL Ber. 1937, 70 B, 1186.
- (35) J.P. DANEHY et J.A. KREUZ J. Am. Chem. Soc. 1961, 83, 1109.
- (36) D.S. TARBEL et D.P. HARNISH Chem. Revs. 1951, 49, 11.
- (37) J.R. DANN, G.L. OLIVER J. Am. Chem. Soc. 1957, 79, 1644.
et J.W. GATES
- (38) J.M. SWAN Nature 1957, 179, 965.
- (39) N.A. ROSENTHAL et G. OSTER J. Soc. Cosmetic Chemists, 1954, 5, 286.
- (40) N.A. ROSENTHAL et G. OSTER J. Am. Chem. Soc. 1961, 83, 4445.
- (41) E.G. HOWARD J. Org. Chem. 1962, 27, 2212.
- (42) J. DANEHY et V. ELIA J. Org. Chem. à paraître.
- (43) J.S. COLEMAN, R.A. PENNEMAN Inorganic Chemistry, 1968,
L.H. JONES et I.K. KRESSIN 7, 1174.

TABLE DES MATIERES

PARTIE THEORIQUE

Introduction. 1

ETUDE EN SOLUTION AQUEUSE D'UNE ACI-REDUCTONE SULFUREE : L'ACIDE β MERCAPTOPYRUVIQUE.

PARTIE I : Mise en évidence d'une tautomérie.

Réduction sur électrode de mercure.

I - Etude spectrophotométrique dans l'ultra-violet. 4

II - Acidification d'une solution de 3c.

1°) Titrage potentiométrique. 7

2°) Acidification instantanée à pH $< 2,5$. 7

3°) Acidification instantanée à pH $> 2,5$. 10

III - Comportement cathodique.

1°) Etude polarographique. 11

2°) Coulométrie à potentiel fixé.

a) milieu acide 12

b) milieu alcalin 13

IV - Discussion 13

V - Conclusion 18

PARTIE II : Oxydation sur électrode de mercure.

Mise en évidence d'une bicondensation.

I - Comportement anodique

1°) Etude polarographique. 22

2°) Coulométrie à potentiel fixé	
a) pH < 12	23
b) pH > 12	23
3°) Discussion	
a) pH < 12	24
b) pH > 12	28
4°) Conclusion	31

II - Etude de la bicondensation

1°) Mise en évidence de l'évolution	32
2°) Etude cinétique	33
3°) Titrage cryoscopique	34
4°) Discussion	34

ETUDE EN SOLUTION AQUEUSE DE DERIVES DU TYPE $(-S-CH_2-COR)_2$: ACIDES DITHIODIPYRUVIQUE ET DITHIODIACETIQUE.

PARTIE III

I - Acide dithiodipyruvique

Introduction	39
1°) Comportement cathodique de l'électrode à goutte de mercure des semicarbazones de:	
a) l'acide β mercaptopyruvique	39
b) l'acide dithiodipyruvique	42
c) spectres U.V. des deux semicarbazones	44
2°) Comportement électrochimique de l'acide dithio- dipyruvique	
a) étude polarographique	45
b) coulométrie à potentiel fixé	46
c) interprétation des polarogrammes	47

II - Acide dithiodiacétique

1°) Comportement cathodique	51
a) étude polarographique	51
b) électrolyse à potentiel fixé	52
2°) Etude de la dégradation du dithiodiacétate en milieu alcalin.	53
3°) Etude du stade intermédiaire Y	54
4°) Evolution à 25°C de Y^{3-} en milieu alcalin	55
5°) Dégradation désulfurante	56
6°) Conclusion	57

PARTIE EXPERIMENTALE

Appareils utilisés	59
--------------------	----

PARTIE I

I - <u>Préparation de l'acide β mercaptopyruvique et de sels d'ammonium et de sodium.</u>	60
--	----

II - Etude de la transformation $2b + OH^- \longrightarrow 3c + H_2O$

1°) Alcalinisation de 2a. Spectre U.V de l'épisulfide	4 61
2°) Acidification à pH < 2,5 de 3c	63

III - Préparation de sels de plomb

1°) Mercaptolactate de plomb	66
2°) Parapyruvate de plomb	67

PARTIE II

I - Isolement d'un mercaptide de Hg I	69
---------------------------------------	----

II - Isolement d'un sel de plomb après oxydation en milieu alcalin	69
--	----

III - Préparation d'un sel de sodium bicondensé	70
---	----

IV - Titrage cryoscopique	71
---------------------------	----

V - Détermination du nombre de F	71
----------------------------------	----

VI - Etude de la cinétique de la bicondensation	72
---	----

PARTIE III

I - Préparation de 5'	74
-----------------------	----

II - Préparation de 5	74
-----------------------	----

III - Préparation de l'ester méthylique de 5	75
--	----

IV - Réduction à potentiel fixé de 9c	76
---------------------------------------	----

V - Etude cinétique à 25°C de la formation de Y	77
---	----

VI - Isolement de Y	77
---------------------	----

VII - Titrage cryoscopique de Y	78
---------------------------------	----

VIII - Evolution à 25°C de Y^{3-}	79
-------------------------------------	----

IX - Evolution à 35° C puis à 45°C de Y^{3-}	80
--	----

